



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto de un reto inmune sobre la coloración, termorregulación y desempeño locomotor de *Sceloporus grammicus* (Phrynosomatidae)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

LAURA ARROYO RABASA

DIRECTORES DE TESIS:

DR. FAUSTO RENÉ BEAMONTE BARRIENTOS

DRA. LAURA ROXANA TORRES AVILÉS

2018

CD.MX.





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Arroyo
Rabasa
Laura
56 60 78 91
Universidad Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
30954557-2

2. Datos del tutor

Dr.
Fausto René
Beamonte
Barrientos

3. Datos del cotutor

Dra.
Laura Roxana
Torres
Avilés

4. Datos del sinodal 1

Dr.
José Jaime
Zúñiga
Vega

5. Datos del sinodal 2

Dr.
Alejandro
Córdoba
Aguilar

6. Datos del sinodal 3

Dr.
Sergio Iván
Ancona
Martínez

7. Datos del sinodal 4

Dr.
Aníbal Helios
Díaz de la Vega
Pérez

8. Datos de la tesis.

Efecto de un reto inmune sobre la
coloración, termorregulación y
desempeño locomotor de
Sceloporus grammicus
(Phrynosomatidae)
p. 91
2018

In memoriam

Dr. René Beamonte Barrientos (1979-2016)

“Nothing in Biology makes sense except in the light of Evolution”
T. Dobzhansky

“The Road goes ever on and on
Down from the door where it began.
Now far ahead the Road has gone,
And I must follow, if I can,
Pursuing it with eager feet,
Until it joins some larger way
Where many paths and errands meet.
And whither then? I cannot say”
J.R.R.Tolkien

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a PRODEP UATLXPTC125-DSA/102.5/15/6894, Cátedras CONACYT proyecto 883 “Aproximación ecofisiológica para la conservación del Parque Nacional La Malinche” y Programa Volkswagen-Por amor al planeta proyecto “Estación Científica La Malinche: Investigación integrativa para la conservación y la Educación Ambiental” por el apoyo financiero para desarrollar este trabajo. Y a Permiso Semarnat SGPA/DGVS/07019/15 por permitirme realizar el trabajo de campo en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala, bajo normas éticas de manejo de fauna.

Agradezco a mis tutores de tesis, el Dr. René Beamonte y la Dra. Roxana Torres, porque bajo su dirección y apoyo se desarrolló este trabajo. También agradezco a mis sinodales, el Dr. José Jaime Zúñiga, el Dr. Alejandro Córdoba, el Dr. Sergio Ancona y el Dr. Aníbal Díaz de la Vega, por su retroalimentación a la tesis. Y finalmente agradezco a todos los que me apoyaron en el trabajo de campo y laboratorio: al Dr. Aníbal Díaz de la Vega, al Dr, René Beamonte, al Dr. Alejandro Ríos, al Biól. Erick Gómez y a Javier Consuelo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco muy sinceramente a mis tutores de tesis, el Dr. René Beamonte y la Dra. Roxana Torres, porque ambos me aceptaron como alumna, me brindaron de su experiencia, consejos y amistad, y me introdujeron al interesante y hermoso mundo de la investigación. Este trabajo comenzó a desarrollarse bajo la dirección de René, cuya gran creatividad científica me ha marcado para siempre y a la memoria de quién está dedicado este trabajo. Posteriormente, este trabajo continuó bajo la tutela de Rox, a quién agradezco mucho por hacerme crecer como científica y como persona.

También estoy muy agradecida con mis sinodales, el Dr. José Jaime Zúñiga, el Dr. Alejandro Córdoba, el Dr. Sergio Ancona y el Dr. Aníbal Díaz de la Vega, por revisar este trabajo y posteriormente darme comentarios y sugerencias, así como por su amable disposición para discutir ciertos temas cuando fue necesario.

Agradezco mucho a todos los que me apoyaron para realizar el trabajo de campo y laboratorio en el volcán La Malinche. Aníbal, muchas gracias enseñarme acerca de la colecta y manejo de lagartijas, y en conjunto con René gracias por todo el apoyo logístico. A los voluntarios Chelén, Erick y Javier, les agradezco mucho su esfuerzo y tiempo y que hicieron menos solitarios mis días en la montaña.

Agradezco con mucho cariño a mis hermanos Adolfo y Lucy, a mis papás Adolfo y Laura, y a mi querido Francisco, por todo su apoyo incondicional y su amor durante esta etapa de mi vida. Estoy en deuda con todo lo que he recibido de ustedes, personas hermosas.

Finalmente, y no menos, agradezco a todos los nuevos amigos y colegas que conocí en el Laboratorio de Conducta Animal: Dante, Vero, Pablo, Alex (Martínez), Nadia, Víctor, Laura, Yoli, Monse, Marce, César, Sant, Oscar, Aldo, Lynna, Adrián, Sam, Hugh, Alex (González), Rox, Tino, Edgar y cualquier otro que no haya nombrado. Gracias por su ayuda en diversos temas y porque aprendí mucho del mini proyecto, el servicio social, el voluntariado, así como al participar en las sesiones lunáticas.

Muchas gracias a todos y cada uno de ustedes por hacer posible este trabajo.

ÍNDICE

1. RESUMEN	7
2. ABSTRACT	9
3. INTRODUCCIÓN	11
3.1. Historias de Vida, Respuesta Inmune y sus Disyuntivas	11
3.2. Respuesta febril	17
3.3. Desempeño Locomotor	20
3.4. Coloración	22
3.5. <i>Sceloporus grammicus</i>, Weigmann 1828	26
4. OBJETIVOS	28
5. HIPÓTESIS	28
6. PREDICCIONES	28
7. MÉTODO	30
7.1. Área y Especie de Estudio	30
7.2. Diseño Experimental	30
7.3. Reto Inmune	32
7.4. Desempeño Locomotor	33
7.5. Coloración	35
7.6. Termorregulación	37
7.7. Análisis Estadístico	38
8. RESULTADOS	41
8.1. Antes del reto inmune	41
8.2. Después del reto inmune	42
9. DISCUSIÓN	52
9.1. Ausencia de disyuntivas	52
9.2. Cambios a través del tiempo	58
9.3. Peso, cromata azul y cromata UV en machos	60
10. CONCLUSIONES	61
11. REFERENCIAS	63

1. RESUMEN

La defensa contra los patógenos ha resultado en la evolución de distintas disyuntivas de historias de vida entre ésta última y otros componentes de la adecuación, como la reproducción y la supervivencia, que pueden diferir entre sexos y entre especies. Las disyuntivas ocurren en términos de asignación de recursos limitados o por cambios de función en las moléculas. Por ejemplo, los recursos energéticos pueden ser asignados a activar el sistema inmune, lo cual puede involucrar una respuesta febril, o a escapar rápidamente de depredadores. Las moléculas pigmentarias pueden asistir al sistema inmune como antioxidantes o alternativamente indicar el estatus total de antioxidantes no pigmentarios, o pueden producir la coloración de las señales sexuales dependientes de la condición. En este trabajo retomamos el sistema inmune de *Sceloporus grammicus*, un ectotermo, con un antígeno bacteriano (lipolisacárido-LPS) para investigar si la activación del sistema inmune: (1) causa una respuesta febril (elevación de la temperatura corporal promedio), (2) compromete la coloración (reflectancia total, tono y croma) de ornamentos ventrales sexuales secundarios, y/o (3) compromete el desempeño locomotor (velocidad máxima y velocidad sostenida). En individuos de ambos sexos, el reto inmune no tuvo efecto sobre ninguno de los rasgos ligados a la adecuación medidos en este estudio. Los resultados sugieren que las lagartijas no presentaron disyuntivas, quizá porque los individuos que utilizamos habitan una región altitudinal con las condiciones térmicas adecuadas que permiten simultáneamente activar una respuesta inmune, sin desviar recursos de la coloración o el desempeño locomotor. Alternativamente, si la población de origen de las lagartijas utilizadas en este estudio tiene tasas de mortalidad altas, es probable que las

lagartijas hayan priorizado la asignación de recursos hacia la reproducción inmediata y no hacia el sistema inmune, lo que tendría consecuencias negativas en su supervivencia futura. No podemos descartar la posibilidad de que las lagartijas sí montaron una respuesta inmune, pero que ésta última no compromete los rasgos medidos en este estudio. En resumen, este estudio nos muestra que en organismos ectotermos los compromisos entre la inversión en una respuesta inmune y otros rasgos ligados a la adecuación no son una generalidad, como sucede en endotermos; posiblemente debido a que en ectotermos los compromisos estén mediados por otros factores extrínsecos (e.g. ambientales o geográficos).

2. ABSTRACT

Defense against pathogens has resulted in the evolution of different life history trade-offs between the latter and other fitness components, such as reproduction and survival, that may differ between sexes, and among species. Trade-offs are due to allocation of limited resources or to changes in molecule's function. For example, energy resources can be assigned to either activate an immune response, which can involve a febrile response, or to display a quick behavioural response to escape from predators. Pigment molecules may assist immune system regulation as antioxidants, or alternatively, indicate the total status of the non-pigmentary antioxidants, or may produce the coloration of condition dependent sexual signals. In this work, we immune challenged male and female lizards, *Sceloporus grammicus*, an ectothermic, with a bacterial antigen (lipopolysaccharide -LPS-) to explore whether the activation of the immune system: (1) causes a fever response (elevation of the mean body temperature), (2) compromises coloration (brightness, hue and chroma) of secondary sexual ventral ornaments, and/or (3) compromises locomotor performance (maximum sprint speed and sustained speed). The immune challenge had no effect on any of fitness components measured in this study, in males and females. The results suggest that lizards in this study did not exhibit the expected trade-offs, probably because they inhabit a specific altitudinal region that has the required thermal resources for enhancing an immune response without diverting resources from coloration or locomotor performance. Alternatively, if the lizards used in this study have high mortality rates and thus their reproduction is limited to one or a few breeding events, then probably lizards may prioritize immediate reproduction over

their immune system, and thus their later survival. We cannot discount the possibility that lizards did elicit an immune response, but that the latter do not compromise the fitness related traits we examined in this work. Collectively, this study shows that in ectotherms organisms, trade-offs between the investment in an immune response and other fitness related traits are not a generality, as it happens in endotherms; possibly because in ectotherms trade-offs are mediated by other extrinsic factors (e.g. environmental and geographic).

3. INTRODUCCIÓN

3. 1. Historias de Vida, Respuesta Inmune y sus Disyuntivas

La historia de vida de un organismo abarca desde su nacimiento hasta su muerte, por lo que describe los rasgos de su crecimiento, maduración, reproducción y supervivencia (Stearns 1992; Flatt y Heyland 2011). De acuerdo a la teoría clásica de historias de vida, los rasgos de historia de vida son características demográficas como la edad, el tamaño y la edad a la madurez sexual, el número de descendientes, el esfuerzo reproductivo, entre otros (Stearns 1992; Flatt y Heyland 2011). Actualmente, hay otras funciones fisiológicas, como la inmunidad, que se consideran también rasgos de historias de vida, junto con las funciones clásicas como el crecimiento y la reproducción (Sheldon y Verhulst 1996; Norris y Evans 2000; Zuk y Stoehr 2002; Schmid-Hempel 2003; Ruiz et al. 2009; Most et al. 2011; Zamora-Camacho et al. 2015; Husak et al. 2016).

Debido a la gran presión que los parásitos ejercen sobre los organismos de los cuales dependen, la selección ha favorecido una gran variedad de respuestas de defensa comprendidas en la función inmune (Sheldon y Verhulst 1996; Bailey et al. 2012). En los últimos años los inmunólogos evolutivos han estudiado cómo los parásitos han influido el comportamiento, metabolismo, éxito reproductivo e incluso la supervivencia de sus huéspedes desde hace más de 600 millones de años, aproximadamente cuando surgió la multicelularidad, hasta nuestros días (Schmid-Hempel 2011, Bailey et al. 2012). Sin embargo, la inversión individual en la defensa contra patógenos, podría tener efectos negativos en otras funciones de historia de vida, como la supervivencia y la reproducción, proceso que se conoce como disyuntiva o compromiso de historia de vida (Sheldon y

Verhulst 1996, Schmidt-Hempel). Es por lo anterior que la inmunidad constituye un factor importante que moldea las historias de vida de los organismos.

De acuerdo a la teoría de historias de vida, los rasgos de historia de vida no son independientes unos de otros, sino que interactúan entre sí a través de disyuntivas o compromisos (Stearns 1992; Flatt y Heyland 2011). Tradicionalmente, las disyuntivas se han estudiado en términos de asignación de recursos limitados (e.g. recursos energéticos, nutricionales; Stearns 1992; Flatt y Heyland 2011). Es decir, los recursos asignados a un rasgo de historia de vida ya no podrán ser utilizados por otros rasgos de historia de vida debido a limitaciones intrínsecas de los organismos, resultando en costos o efectos negativos sobre otros rasgos que utilizan los mismos recursos (Stearns 1992; Flatt y Heyland 2011). Por ejemplo, la energía que requiere una respuesta inmune, ya no podrá ser utilizada por otras funciones que optimizan la adecuación, como la supervivencia (ver ejemplo en: Zamora-Camacho et al. 2015). Sin embargo, en los últimos años se ha reconocido que además de los compromisos energéticos, otro tipo de compromiso, lo cuáles se estudian en términos de la función múltiple o actividad de algunas moléculas (e.g. componentes del sistema inmune, antioxidantes, hormonas) (Zera y Harshman 2001; Monaghan et al. 2009; Schmid-Hempel 2011). Es decir, cuando la función o actividad de una molécula en un rasgo de historia de vida puede traer efectos negativos sobre otros rasgos de historia de vida (Zera y Harshman 2001; Monaghan et al. 2009; Schmid-Hempel 2011). Por ejemplo, los organismos aeróbicos son capaces de utilizar el oxígeno para realizar procesos biológicos, como la respiración. Sin embargo, dichos procesos producen sustancias reactivas que causan daños en distintas partes del cuerpo de los organismos,

que los organismos también tienen que prevenir, que es lo que se conoce como el estrés oxidante (Monaghan et al. 2009). En ambos casos, los costos asociados al beneficio de maximizar algún rasgo de historia de vida, ya sea mediante la asignación diferencial de recursos o la activación de alguna función que perjudique otros rasgos (Stearns 1992).

La respuesta inmune se compone de una respuesta inmune innata y la respuesta inmune adaptativa, ambas costosas para los organismos. La respuesta inmune innata es la primera línea de defensa cuando hay reconocimiento de patógenos y es costosa en términos de moléculas y células como péptidos antimicrobianos y lisosomas, así como de citoquinas y energía para producir respuestas inmunes básicas como por ejemplo, la respuesta febril (Zimmerman et al. 2010; Schmid-Hempel 2011). Por otro lado, la respuesta inmune adaptativa tarda días o semanas en activarse por completo y requiere de una exposición previa al antígeno, así como de linfocitos y anticuerpos (Zimmerman et al. 2010; Schmid-Hempel 2011). Por lo tanto, utilizar recursos energéticos o funciones moleculares para activar una respuesta inmune podría comprometer la disponibilidad de estos recursos o moléculas para otras funciones vinculadas con diferentes componentes de la adecuación como el crecimiento, la reproducción o la supervivencia (Sheldon y Verhulst 1996).

A nivel individual, existe variación en cuánto se invierte en activar una respuesta inmune, y desde una perspectiva de historias de vida esta variación podría ser resultado del balance costo/beneficio para un individuo de montar una respuesta inmune (Schmid-Hempel 2011). Entre las variables que podrían influir la interacción parásito-huésped, y por lo tanto el balance costo/beneficio de montar una respuesta inmune están: el estatus

del huésped (e.g., condición, estado reproductivo, edad, sexo, disponibilidad de recursos), la amenaza que representa el parásito (e.g., virulencia, carga parasitaria) y las características del ambiente (como la temperatura, especialmente en ectotermos; Schmid-Hempel 2011).

Para estudiar cuánto le cuesta a los individuos activar la respuesta inmune existen dos aproximaciones. La primera aproximación es retar el sistema inmune con alguna sustancia que active una respuesta y posteriormente se mide si hay efecto sobre distintos rasgos de historia de vida (Schmid-Hempel 2011). En estudios que utilizan esta aproximación, el lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de bacterias Gram-negativas es uno de los inmunogénicos más exitosos en lagartijas (Tabla 1) y otros reptiles, como tortugas (Ibáñez et al. 2014) y serpientes (Todd et al. 2016). De los estudios en los que se ha utilizado un reto inmune con LPS en lagartijas, en diez de once estudios se han encontrado costos o disyuntivas con otros componentes importantes para la adecuación (Tabla 1). Una de las ventajas de utilizar LPS es que activa varias células del sistema inmune de manera no específica, así como anticuerpos específicos de LPS, pero sin consecuencias patológicas en el huésped (Schmid-Hempel 2011).

En la segunda aproximación, el procedimiento es invertido: se manipula algún rasgo de historia de vida del huésped y posteriormente se cuantifican los efectos en distintos parámetros del sistema inmune (Schmid-Hempel 2011). Por ejemplo, French et al. (2007a,b) documentaron inmunosupresión (menor habilidad para sanar heridas) en hembras de la lagartija *Urosaurus ornatus* cuando se estimuló experimentalmente la vitelogénesis, y por tanto, su inversión reproductiva, bajo condiciones de baja

disponibilidad de alimentos. Ambas aproximaciones sugieren que, en general, montar una respuesta inmune puede ser costoso, debido a que compromete otros componentes ligados a la adecuación, como la termorregulación, el esfuerzo reproductivo, el crecimiento, la coloración, secreciones químicas, los niveles antioxidantes, el desempeño locomotor, el uso de refugio, entre otros (ver ejemplos en: Tabla 1; French et al. 2007a,b).

En este trabajo investigamos en la lagartija *Sceloporus grammicus* si durante la época reproductiva, activar experimentalmente una respuesta inmune mediante la inyección de lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli*: (1) causa una respuesta febril (como parte de una respuesta inmune), (2) compromete la inversión hacia la supervivencia vía el desempeño locomotor, (3) compromete la inversión hacia la reproducción vía coloración y (4) si éstas disyuntivas difieren entre machos y hembras.

En las próximas secciones, explicaré más a fondo en qué consisten la fiebre, el desempeño locomotor y la coloración en reptiles, especialmente en lagartijas, y los costos que éstas funciones ligadas a la adecuación tienen, para entender las disyuntivas fisiológicas que subyacen a nuestras predicciones.

Tabla 1. Estudios en lagartijas donde miden efectos de activar la respuesta inmune con LPS sobre otros componentes ligados a la adecuación.

Especie	Disyuntivas entre sistema inmune y	Efecto LPS	Referencia
<i>Iguana iguana</i>	Termorregulación	Indujo fibre en lagartijas con mayo masa corporal; mientras que indujo hipotermia en lagartijas con menor masa corporal.	Deen y Hutchison (2001)
<i>Ctenophorus fordi</i>	Esfuerzo reproductivo y crecimiento y termorregulación de las crías	Disminuyó la masa de los huevos y las crías prefirieron temperaturas más altas y crecieron más lento.	Uller et al. (2006)
<i>Anolis carolinensis</i>	Termorregulación	Indujo hipotermia durante la noche por 3 días post-tratamiento; mientras que indujo hipotermia durante el día sólo durante el primer día post-tratamiento.	Merchant et al. (2008)
<i>Podarcis hispanica</i>	Coloración	Disminuyó la proporción de pigmentos amarillos y croma amarillo de la coloración sexual ventral de machos.	López et al. (2009a)
<i>Podarcis hispanica</i>	Secreciones químicas	Disminuyó las secreciones femorales químicas utilizadas en contexto sexual.	López et al. (2009b)
<i>Ctenophorus pictus</i>	Estrés oxidativo	Aumentó niveles pro-oxidantes y disminuyó niveles antioxidantes.	Tobler et al. (2015)
<i>Psammodromus algirus</i>	Desempeño locomotor	Disminuyó velocidad máxima de machos, y no así de hembras.	Zamora-Camacho et al. (2015)
<i>Psammodromus algirus</i>	Termorregulación	Indujo hipotermia en individuos de bajas altitudes; mientras que no indujo respuestas termorregulatorias en individuos de ambientes montañosos.	Zamora-Camacho et al. (2016)
<i>Podarcis liolepis</i>	Uso de refugio y termorregulación	Disminuyó el tiempo que pasan los machos en refugios después de un ataque simulado de depredador, lo que aumentó el tiempo que pasan termorregulando a la vista de depredadores.	Iglesias-Carrasco et al. (2016)
<i>Psammodromus algirus</i>	Coloración	Disminuyó el croma rojo de la coloración sexual de poblaciones parasitadas con garrapatas; mientras que disminuyó el área superficial de la coloración de poblaciones no parasitadas.	Garrido-Llanos et al. (2017)
<i>Uta stansburiana</i>	Condición y metabolismo	No hubo efecto sobre la masa corporal ni sobre la tasa metabólica.	Smith et al. (2017)

LPS x lipopolisacárido de la pared celular de bacterias Gram-negativas

Nota x Los estudios enlistados utilizan LPS a partir de que experimentalmente se ha medido que el sistema inmune se activa después de un reto inmune en lagartijas (Saad y El Deeb 1990; Mondal y Rai 2001; Mondal y Rai 2002; Brace et al. 2015)

3.2. Respuesta febril

La fiebre o respuesta febril se define como la elevación de la temperatura corporal por arriba del intervalo térmico óptimo cuando hay reconocimiento de patógenos, por lo que forma parte de la defensa inmune (Kluger 1991; Scmid-Hempel 2011; Rakus et al. 2016). Aunque, algunos reptiles, responden a un reto inmune con hipotermia, es decir una disminución de la temperatura corporal, o bien no presentan respuestas termorregulatorias por efecto de diversos factores como la dosis de antígeno, las condiciones ambientales o la condición corporal (Deen y Hutchinson 2001; Merchant et al. 2008; Todd et al. 2016; Zamora-Camacho et al. 2016).

La fiebre se acompaña de modificaciones conductuales y fisiológicas que resultan en el aumento de la supervivencia del huésped a través de promover la defensa inmune (Roth y Blatteis 2014). Las temperaturas febriles promueven tanto la respuesta inmune innata (e.g. promueve el potencial fagocítico) como la adaptativa (e.g. aumenta la producción de linfocitos) para combatir patógenos (Launey et al. 2011; Evans et al. 2015).

Además, la fiebre tiene efectos negativos directos sobre el crecimiento de los patógenos (Kluger et al. 1998; Anderson et al. 2013; Martel et al. 2014). La efectividad de la respuesta febril para combatir patógenos y aumentar la supervivencia del huésped se ha documentado tanto en endotermos (Hasday et al. 2000), como en ectotermos (Kluger et al. 1975; Cabanac y Laberge 1998; Elliot et al. 2005; Merchant et al. 2008; Boltaña et al. 2013).

Algunos estudios han confirmado experimentalmente que después de la exposición a retos inmunes existe una respuesta febril o fiebre conductual en lagartijas.

Por ejemplo, en lagartijas *Iguana iguana* un reto inmune con LPS indujo fiebre en individuos con mayor masa corporal; mientras que indujo hipotermia en individuos con menor masa corporal (Deen y Hutchinson 2001: Tabla 1). En otro estudio, las crías de lagartijas *Ctenophorus fordi* que nacieron de madres inoculadas con LPS prefirieron temperaturas más altas durante su crecimiento en comparación con las crías del grupo control (Uller et al. 2006: Tabla 1).

Otros estudios han documentado incluso incrementos en la tasa de supervivencia de los individuos asociados a la ocurrencia de fiebre durante una infección. Por ejemplo, peces cebrá *Danio rerio* sujetos a una infección viral y a los cuales se les permitió presentar una respuesta termorregulatoria dentro de un gradiente térmico, presentaron fiebre post-tratamiento durante 24 horas para combatir la infección y eliminaron la replicación del virus en su cuerpo a través de un aumento en la tasa de transcripción de genes asociados a una respuesta inmune anti-viral robusta y específica, contrario a los individuos a los que se les obligó a mantener una temperatura neutral constante, lo cuales presentaron tasas de mortalidad más altas (Boltaña et al. 2013). Similarmente, iguanas desérticas *Dipsosaurus dorsali* infectadas con bacterias vivas y a las que se les permitió presentar una respuesta termorregulatoria dentro un gradiente térmico presentaron un aumento en la temperatura corporal de 2°C y así mismo presentaron tasas más altas de supervivencia en comparación con las iguanas infectadas que permanecieron en una temperatura neutral constante (Kluger et al. 1975).

Los beneficios de la fiebre antes mencionados tienen altos costos para los vertebrados, los cuáles difieren entre ectotermos (peces, anfibios y reptiles) y endotermos

(aves y mamíferos). A diferencia de los endotermos, los ectotermos carecen de la capacidad para regular la temperatura corporal (o termorregular) endógenamente, por lo que termorregulan conductualmente, es decir, moviéndose constantemente entre lugares sombreados y superficies calientes o bajo fuentes de radiación solar, mientras realizan un intercambio de calor con el ambiente (Belluere y Carrascal 1998; Martin y López 2009). La elevación de temperatura corporal o fiebre conductual en endotermos implica un alto gasto energético (Marais et al. 2011); mientras que en ectotermos tiene tres tipos de costos: (1) gasto de energía, ya que la tasa metabólica aumenta conforme aumenta la temperatura corporal (Kluger 1979), (2) aumenta el tiempo que los individuos pasan en fuentes de calor para elevar su temperatura corporal y por lo tanto aumenta el tiempo de exposición a depredadores (Herczeg et al. 2008) o se reduce el tiempo que pueden dedicar a otras actividades, como forrajear o buscar pareja (Zamora-Camacho et al. 2015) e (3) impide mantener la temperatura corporal dentro de un intervalo estrecho de temperaturas fisiológicamente óptimas, las cuáles maximizan distintos aspectos de la historia de vida de los ectotermos.

En ectotermos, las variaciones por fuera del intervalo de temperaturas óptimas pueden tener efectos negativos en algunas actividades del sistema inmune (como la fagocitosis y la habilidad para matar bacterias: Mondal y Rai 2001; Merchant y Britton 2006; Sacchi et al. 2014), el desempeño locomotor (Bauwens et al. 1995), la digestión (Wang et al. 2003), la reproducción (El-Hafez et al. 2014) y el crecimiento (Yagi y Litzgus 2013). También, la temperatura corporal está asociada a la coloración de ornamentos sexuales de algunas especies de lagartijas (Langkilde y Boronow 2012; Plasman et al.

2015). Por esto, la fiebre como parte de una respuesta inmune para combatir patógenos podría tener efectos negativos sobre los componentes antes mencionados.

3.3. Desempeño Locomotor

Además de los parásitos, otra fuerte amenaza hacia la supervivencia de los organismos son los depredadores, quiénes pueden reducir la futura adecuación de la presa a cero. Por lo tanto, la selección natural ha favorecido estrategias antidepredación. En algunas lagartijas, una de las estrategias antidepredación que la selección ha mantenido es un escape rápido al refugio más cercano cuando se detecta a un depredador, característica ligada al desempeño locomotor (Martin y López 2000; Calsbeek e Irschick 2007). Por ejemplo, lagartijas de poblaciones más expuestas a depredadores muestran mayor velocidad de escape en comparación con las lagartijas de poblaciones menos expuestas (Vervust et al. 2007). Lo que sugiere que las adaptaciones morfológicas y fisiológicas necesarias para desarrollar y mantener una alta velocidad de carrera son costosas (Zamora-Camacho et al. 2015).

Además de que tan rápido corre un individuo, hay otros aspectos del desempeño locomotor que brindan mayor poder explicativo de la capacidad locomotora, como la resistencia. La resistencia es el tiempo y la distancia que un individuo corre antes de quedar exhausto (Le Galliard et al. 2004; Husak et al. 2016). Por lo tanto, una capacidad locomotora alta requiere de recursos energéticos para mover y mantener extremidades musculosas (Christian et al. 1997; Lochmiller y Deerenberg 2000).

En párrafos anteriores mencionamos que el sistema inmune también requiere de varios recursos, entre ellos energía y proteínas específicas. Por lo tanto, en presencia de un patógeno, podría esperarse una disyuntiva de historia de vida entre el desempeño locomotor y el sistema inmune. Esto debido a que la asignación de recursos proteínicos a la respuesta inmune podría debilitar los músculos locomotores; mientras que la asignación de energía a la respuesta inmune podría ocasionar que no se cubra la demanda energética requerida por la musculatura para lograr una alta capacidad locomotora (Lochmiller y Deerenberg 2000; Schmid-Hempel 2011; Otti et al. 2012; Zamora-Camacho et al. 2015). En apoyo a esta hipótesis, Zamora-Camacho et al. (2015) encontraron que la exposición experimental a un reto inmune con LPS disminuyó la velocidad de carrera en machos, pero no hembras, de la lagartija *Psammotromus algirus*. De estos resultados, los autores sugieren que los machos que combaten patógenos están expuestos a un mayor riesgo de depredación o pasan más tiempo dentro de refugios y forrajean menos. Los autores también sugieren que la diferencia sexual en la ocurrencia de esta disyuntiva posiblemente se debe a que las hembras no poseen extremidades musculosas que consuman grandes cantidades de energía, razón por la cuál son más lentas que los machos (Zamora-Camacho et al. 2015, pero ver Husak et al. 2016).

Otros factores podrían explicar la ausencia de disyuntivas entre el desempeño locomotor y el sistema inmune en las hembras, como diferencias sexuales en la respuesta inmune. En los vertebrados, los machos generalmente presentan respuestas inmunes menos vigorosas (asignan menos recursos al sistema inmune) y sufren más por parásitos en comparación con las hembras, principalmente por efectos inmunosupresores de

hormonas esteroideas como la testosterona (Zuk y Stoehr 2002; Klein 2004); aunque algunos estudios sugieren que la testosterona sólo es inmunosupresora en condiciones de restricción de alimento (French et al. 2007a, b; Husak et al. 2016; Skinner et al. 2016). Los estudios referidos anteriormente permiten hipotetizar la existencia de disyuntivas entre el sistema inmune y desempeño locomotor en lagartijas, y sugieren que estas disyuntivas podrían diferir entre machos y hembras.

3.4. Coloración

Las coloraciones en animales generalmente funcionan como señales que benefician al emisor al influir en el comportamiento del receptor (Tibbetts et al. 2017). Muchas de éstas señales evolucionan en el contexto de la selección sexual, donde solo los individuos con buena condición (peso, talla, sistema inmune, entre otros) producen una señal honesta, es decir, una señal que permite a los conspecíficos identificar la calidad fenotípica y la condición del señalador como pareja potencial o como contrincante en el contexto de las interacciones de competencia entre individuos del mismo sexo (Darwin 1871; Zahavi 1975; Hamilton y Zuk 1982; Hill 2011).

En lagartijas con sistema sexual poliginándrico (i.e. cuando en un área se superponen los territorios de dos o más machos con los territorios de dos o más hembras) y paternidad múltiple, el brillo, tono y saturación de las coloraciones sexuales secundarias en machos emiten información utilizada principalmente en las interacciones entre machos para indicar la capacidad de pelea, tamaño del territorio, número de hembras del macho, entre otros (Olsson 1994; Martin y Forsman 1999; LeBas 2001;

Whiting et al. 2003; Anderholm et al. 2004; Bajer et al. 2011). En algunos otros casos, estos atributos de coloración de los machos pueden transmitir información útil para las hembras en la elección de pareja (Bajer et al. 2010; Swierk et al. 2012). En las hembras, la coloración generalmente está asociada al estatus reproductivo, ya que puede proveer información acerca del periodo de receptividad (Zucker y Boecklen 1990; Cuadrado 2000; Hager 2001; Weiss 2002; Baird 2004; Lancaster et al. 2009; Chan et al. 2009).

En reptiles, los distintos colores se producen por diferentes mecanismos. Los colores ultravioleta (UV) y azules generalmente son producidos estructuralmente, es decir, por reflexión y dispersión de la luz por medio de células y tejidos (Shawkey y D'Alba 2017). Aunque en algunas especies de lagartijas de la Familia Phrynosomatidae se sabe que los colores UV y azules también dependen de la densidad de pigmentos de melanina producidos endógenamente (*Sceloporus undulatus erythrocheilus*: Morrison et al. 1995; *U. ornatus*, *Sceloporus undulatus consobrinus*, *Sceloporus jarrovii*: Quinn y Hews 2003; *Uta stansburiana*: Haisten et al. 2015). Los colores anaranjados y rojos se pueden producir por pigmentos carotenoides obtenidos de la dieta (ejemplos en: Steffen et al. 2009), o por la síntesis endógena de pigmentos pteridina (ver Morrison et al. 1995; Steffen et al. 2010; Weiss et al. 2012), e incluso, en algunas especies, por ambos mecanismos (Ligon et al. 2016). Por lo tanto, las distintas coloraciones tienen diferentes costos y limitaciones, las producidas estructuralmente requieren principalmente de energía para mover células y tejidos, las producidas endógenamente, además de energía, requieren de proteínas y pigmentos, y las obtenidas de los alimentos dependen de la disponibilidad de alimentos (Ligon et al. 2016).

En diversos vertebrados, algunos pigmentos como los carotenoides y melaninas, además de tener una función en la coloración de los ornamentos, pueden actuar como antioxidantes, eliminando los radicales libres y reduciendo el estrés oxidante o formando parte de la función inmune (Zuk y Stoehr 2002; Monaghan et al. 2009). Actualmente, no es claro que tan generalizado es en reptiles que los pigmentos carotenoides tengan una función antioxidante, como sucede en algunas lagartijas como *Ctenophorus pictus* (Olsson et al. 2008) y *Podarcis hispanica* (Ortega et al. 2015). Sin embargo, se propone una disyuntiva indirecta entre coloración y sistema inmune mediada por pigmentos carotenoides, donde la intensidad de la señal colorida es indicador del total de antioxidantes no pigmentarios, debido a que éstos últimos protegen a los pigmentos coloridos de oxidarse y por consiguiente de no blanquearse (Monaghan et al. 2010). Por ejemplo, en lagartijas *Lacerta schreiberi* alimentadas solamente con antioxidantes no pigmentarios (como la vitamina E), o con vitamina E y pigmentos carotenoides, se aumentó la expresión de las coloraciones ventrales en comparación con los individuos control (Kopena et al. 2014). Lo que sugiere que la coloración refleja de manera indirecta los niveles de antioxidantes no pigmentarios.

Por lo tanto, el conjunto de evidencias de costos asociados a la producción de color, principalmente energéticos, de la función antioxidante o del papel de indicadores que pueden tener algunos pigmentos del estatus del sistema inmune, así como de la importancia de una señal colorida dependiente de la condición, ha llevado a los eco-inmunólogos a investigar si existen disyuntivas entre coloración y sistema inmune (Blount et al. 2003; Faivre et al. 2003). Por ejemplo, López et al. (2009a) demostraron que en

lagartijas *Podarcis hispanica* macho retadas inmunitariamente con LPS se afectó negativamente la reflectancia total y la proporción de pigmentos amarillos después de un mes, en comparación con machos que no fueron retados (Tabla 1). Similarmente, Ibáñez et al. (2014) encontraron que tortugas *Trachemys scripta* hembras que fueron retadas con LPS mostraron rayas amarillas con menos reflectancia total y cromas amarillos, así como parches rojos de tono más claro después de un mes, en comparación con las hembras del grupo control.

Los ejemplos anteriores son evidencia de disyuntivas entre el sistema inmune y la expresión de coloraciones tegumentarias en reptiles en condiciones de laboratorio. Además, dichas disyuntivas podrían diferir entre los sexos si existen diferencias en los mecanismos de producción de color entre hembras y machos (e.g., si los machos producen colores estructuralmente mientras que las hembras obtienen sus pigmentos de la dieta) o bien, por el efecto de la testosterona. La testosterona tiene efectos benéficos sobre aspectos reproductivos, como la coloración. Por ejemplo, en la época reproductiva, la expresión de coloraciones sexuales secundarias azules, características de lagartijas macho del género *Sceloporus* al que pertenece nuestra especie de estudio, es dependiente de altos niveles de testosterona (Hews et al. 1994; Quinn y Hews 2003; Cox et al. 2005). Sin embargo, como mencionamos anteriormente, la testosterona también tiene efectos inmunosupresores. Por lo tanto, algunos estudios sugieren que altos niveles de testosterona en machos durante la época reproductiva aumentan el parasitismo o disminuyen la supervivencia, como sucedió en lagartijas *Lacerta agilis* (Olsson et al. 2000) y *P. algirus* (Salvador et al. 1996), respectivamente. Aunque en general la coloración azul

dependiente de andrógenos se presenta en machos, hay casos donde se presenta en ambos sexos, como en *S. jarrovii* (Cox et al. 2008), por lo que es probable que en algunas hembras también haya inmunosupresión asociada a ornamentos coloridos, como en *Sceloporus pyrocephalus* (Calisi et al. 2008).

3.5. *Sceloporus grammicus*, Weigmann 1828

Este estudio se realizó con la lagartija del mezquite, *Sceloporus grammicus* (Familia Phrynosomatidae), reptil vivíparo, distribuido desde ambientes tropicales de baja altitud hasta ambientes fríos de alta montaña en México central (Arévalo et al. 1991; Zúñiga et al. 2014). En ambientes naturales, la lagartija del mezquite presenta un pico de actividad sexual durante otoño (agosto-octubre); mientras que en ambientes urbanizados pueden presentar actividad sexual a lo largo de todo el año (Jiménez-Cruz et al. 2005; Argáez 2015). Las lagartijas utilizadas en este estudio fueron capturadas en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala, un área no urbanizada, por lo que es probable que tengan un sólo pico reproductivo durante el otoño.

La lagartija del mezquite presenta dimorfismo sexual en tamaño, donde los machos son 9% más grandes y 30% más pesados que las hembras (Argáez 2015), sin embargo, ambos sexos alcanzan la madurez sexual con una longitud hocico-cloaca (LHC) de 44.1-44.5 mm (Jiménez-Cruz et al. 2005). Esta lagartija también presenta diferencias sexuales en la coloración, donde los machos presentan dos parches paralelos en la parte ventral de color azul, mientras que las hembras presentan dos parches ventrales anaranjados (Argáez 2011). Además, *S. grammicus* presenta gulas con coloraciones

distintas según sexo y población (Bastiaans et al. 2013). En la población donde se colectaron los individuos de este estudio se han observado machos con gula de color azul, amarillo y anaranjados, así como hembras con gula amarillos, anaranjados o grises (observación personal). Argaez (2011) encontró que las hembras realizaron mayor número de despliegues hacia machos con parches ventrales más grandes y pasaron más tiempo junto a machos con parches con mayor reflectancia total. Argaez (2011) también encontró que tanto el croma azul de los parches ventrales de los machos como el área del parche de las hembras se relacionan positivamente con la condición corporal (LHC y peso). Lo anterior sugiere que los parches azules de los machos podrían ser señales sexuales que las hembras usan en la elección de pareja, y que la expresión de estos parches de color es costoso.

Elegimos como modelo de estudio un reptil, ya que la mayoría de estudios eco-inmunológicos se han realizado en endotermos (aves y mamíferos: Norris y Evans 2000; Martin et al. 2008). Además, los reptiles son ectotermos amniotas, es decir son el enlace evolutivo entre los ectotermos anamniotas (peces y anfibios) y los endotermos amniotas (aves y mamíferos), por lo que consideramos importante investigar cómo se resuelven las disyuntivas de vida cuando se presenta un reto inmune en este grupo único de vertebrados (Zimmerman et al. 2010).

4. OBJETIVOS

Evaluar en la lagartija *S. grammicus* si activar la respuesta inmune

1. Afecta negativamente su termorregulación, desempeño locomotor y/o coloración, generando disyuntivas de historia de vida, y
2. si dichas disyuntivas difieren entre hembras y machos.

5. HIPÓTESIS

Hipótesis 1: Activar la respuesta inmune en *S. grammicus* para combatir patógenos compromete a la termorregulación, desempeño locomotor y/o coloración.

Hipótesis 2: Y existen diferencias sexuales en dichas disyuntivas.

6. PREDICCIONES

1. Comparados a los individuos en el grupo control, se espera que los individuos a los que se les aplica un reto inmune presenten
 - 1.1. una respuesta febril, es decir, un aumento en la temperatura corporal promedio como parte de la respuesta inmune, así como un aumento en el coeficiente de variación de la temperatura corporal, es decir, una menor precisión para permanecer dentro de un intervalo estrecho de temperaturas fisiológicamente óptimas,
 - 1.2. una disminución en la velocidad de carrera máxima y sostenida, así como en la capacidad de resistencia, y/o
 - 1.3. que en la coloración ventral haya una disminución en al menos uno de los siguientes índices: reflectancia total, tono, saturación, croma UV, croma azul (sólo en machos) y cromo anaranjado-rojo (sólo en hembras).

2. Sobre las diferencias sexuales de las disyuntivas esperamos que
 - 2.1. En machos se comprometa más la velocidad de carrera y la capacidad de resistencia, en caso de que los machos sean más veloces que las hembras, como sucede en otras lagartijas y/o,
 - 2.2. que en machos se comprometa más la coloración, bajo el supuesto de que por efectos inmunosupresores de la testosterona sufran más por parásitos que las hembras. O alternativamente, que en hembras se comprometa más la coloración bajo el supuesto de que por efectos inmunosupresores de la testosterona, los machos asignen menos recursos a la respuesta inmune en comparación con las hembras.

7. MÉTODO

7.1. Área y Especie de Estudio

Se capturaron 80 ejemplares (40 machos y 40 hembras) de *S. grammicus*, con lazo (ver Anexo 2) o a mano (Bastiaans et al. 2013), durante los días 21-22 del mes de agosto de 2015 en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala (19°14'39.7" N, 97°59'22.7" O; México) a 2 400 msnm. Sólo se capturaron organismos adultos o sexualmente maduros, es decir, lagartijas con una LHC mayor a 40 mm (Jiménez-Cruz et al. 2005, Bastiaans et al. 2013). El sexo de las lagartijas se determinó en el campo con base en la presencia/ausencia de escamas poscloacales y las diferencias en color de los parches ventrales (azul, machos; anaranjado, hembras: Arguez 2011; ver Anexo 1). No se capturaron hembras grávidas para no confundir los efectos del reto inmune y el estado reproductivo sobre el desempeño locomotor (Iraeta et al. 2010). Si una hembra está grávida se puede detectar por palpación del vientre en busca de fetos (Iraeta et al. 2010).

Las lagartijas colectadas se transportaron a condiciones de laboratorio en la Estación Científica la Malinche, Tlaxcala (19°14'39" N, 97°59'25" O; México). En laboratorio, medimos el peso (± 0.1 g) con una Pesola® y el largo longitud-hocico-cloaca (LHC, ± 0.01 mm) con un calibrador vernier, e identificamos a cada individuo pegando etiquetas numeradas sobre el dorso en la parte anterior a la cola (ver Anexo 2).

7.2. Diseño Experimental

Las lagartijas permanecieron en cautiverio en la Estación Científica siete días, donde se les proporcionó alimento (2 larvas de *Tenebrio molitor* por individuo) diariamente. Las

lagartijas y terrarios se rociaron con agua varias veces al día para mantener hidratados a los individuos (Deen y Hutchison 2001; Smith et al. 2017). El primero de éstos días, colocamos a las lagartijas en terrarios individuales (50 x 40 x 40 cm) de plástico transparente, con sustrato de tierra (Zamora-Camacho et al. 2016). Los terrarios estaban dentro de una habitación con una ventana que proporcionaba ciclos naturales de luz y oscuridad (Zamora-Camacho et al. 2016). El primer día de cautiverio, las lagartijas permanecieron en aclimatación y bajo las mismas condiciones para evitar diferencias entre individuos antes de iniciar el diseño experimental (Zamora-Camacho et al. 2016).

A partir del segundo día de cautiverio, se tomaron medidas repetidas de desempeño locomotor, coloración y termorregulación, antes y después de un reto inmune en individuos experimentales (con reto inmune) y controles (sin reto inmune). Para lo anterior se siguió un diseño experimental con base en una prueba piloto previa a este estudio (ver Anexo 3; Fig. 1). Antes de las medidas de desempeño locomotor y coloración, colocamos a las lagartijas bajo luz amarilla para que alcancen su temperatura corporal óptima especie-específica de 32°C, temperatura en la que esta especie está activa (Bastiaans et al. 2013; observación personal), para evitar confundir efectos de la temperatura corporal con efectos del reto inmune sobre la velocidad de carrera (Iraeta et al. 2010), o la coloración (Langkilde y Boronow 2012). Diariamente, después de terminadas las mediciones, las lagartijas fueron devueltas a sus terrarios individuales para pasar las noches (Deen y Hutchinson 2001).

Al octavo día retiramos las etiquetas de las lagartijas y las devolvimos a su sitio de captura (López et al 2009a; Zamora-Camacho et al. 2016; Iglesias-Carrasco et al. 2016).

7.3. Reto Inmune

El segundo día de cautiverio, las 80 lagartijas fueron asignadas a uno de tres tratamientos según su peso (Brace et al. 2015), es decir, como utilizamos individuos con pesos entre 4.5-12.5 g, distribuimos los distintos pesos de manera similar entre los tratamientos. Para activar el sistema inmune de los individuos en el grupo experimental (15 machos y 15 hembras), cada lagartija fue inoculada intraperitonealmente en el vientre con 0.0375 mg de LPS (LPS *Escherichia coli*, serotipo 011:B4) diluido en 1 mL de solución salina fosfatada (PBS), lo que resultó en una concentración mayor para las hembras (machos: 0.0044; hembras: 0.0062 mg LPS/ g de masa corporal) debido al dimorfismo sexual de *S. grammicus*, donde los machos son 30% más pesado que las hembras. La dosis de LPS es similar a la utilizada en otros estudios con lagartijas (Uller et al. 2006; López et al. 2009a,b; Zamora-Camacho et al. 2015; Zamora-Camachos et al. 2016; Smith et al. 2017) y se eligió con base en una prueba piloto previa a este estudio (ver Anexo 3). El volumen de inóculo se midió con una micropipeta de 20 µL y cada inyección se realizó con agujas de 27 G, 1/2, 0.4 x 13 mm.

Por otro lado, las lagartijas del grupo control 1 (15 machos y 15 hembras) fueron inoculadas con el mismo volumen de PBS, el cuál no tiene efectos fisiológicos, pero sin LPS (Uller et al. 2006; López et al. 2009a,b; Zamora-Camacho et al. 2015; Zamora-Camachos et al. 2016; Smith et al. 2017). A las lagartijas del grupo control 2 (10 machos y 10 hembras) se les realizó una punción sin inóculo (sin LPS o PBS).

Se realizaron medidas repetidas, de desempeño locomotor, coloración y termorregulación, a todos los individuos, antes y durante los cinco días posteriores al reto

inmune en los horarios que se muestran en la Fig. 1. Durante el experimento murieron dos lagartijas macho del grupo con reto inmune, por lo que hay datos faltantes para dichas lagartijas.

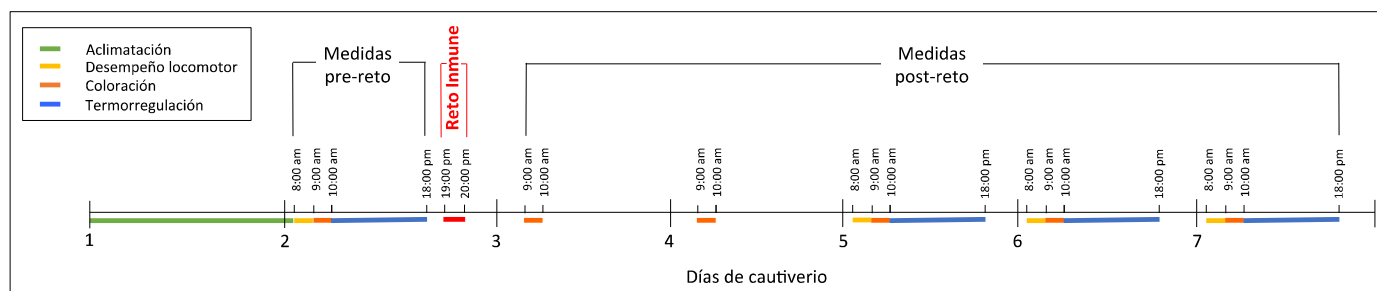


Figura 1. Diseño experimental. La línea horizontal representa los días y horarios en que se realizaron las medidas de desempeño locomotor, termorregulación y coloración.

7.4. Desempeño Locomotor

Del desempeño locomotor se midieron, en ensayos controlados, la velocidad máxima de zancada, como índice de velocidad (Bauwens et al. 1995; Zamora-Camacho et al. 2015; Wang et al. 2017), y la velocidad sostenida (o velocidad con la que la lagartija recorre toda la pista), como índice de capacidad de resistencia (Newbold 2005; Bonino et al. 2011). El desempeño locomotor se midió en una pista de carreras vertical de 1.2 m de (distancia suficiente para obtener la velocidad máxima en lagartijas pequeñas; Bonino et al. 2011) con superficie de yute para proporcionar tracción, paredes de plástico (0.3 m) para evitar que las lagartijas salieran de la pista (Zamora-Camacho et al. 2015) y con marcas cada 1.0 cm para registrar la distancia recorrida por los individuos. Se liberó a cada lagartija al inicio de la pista de carreras y se le persiguió con la mano (siempre la misma persona) para

animar el comportamiento de escape (Bauwens et al. 1995; Newbold 2005; Zamora-Camacho et al. 2015).

Cada lagartija realizó dos carreras por día (aunque en la mayoría de los estudios publicados corren de 3 o más veces para obtener indicadores confiables de velocidad, en nuestras pruebas piloto las lagartijas no fueron capaces de realizar más de dos carreras por día debido a la fatiga). Para registrar las carreras se tomaron fotografías en serie con una cámara fotográfica Canon EOS Rebel T2i 50 mm, con un intervalo de 0.3 s entre foto y foto (para confirmar dicho intervalo de tiempo, se colocó un cronómetro al lado de la pista, que también fue fotografiado). Del registro fotográfico obtuvimos para cada carrera: que el intervalo de tiempo entre foto y foto sí fue de 0.3 s, el tiempo total de carrera (t_t) o el tiempo que le llevo a cada lagartija recorrer la pista completa, la distancia recorrida entre foto y foto (d) y la distancia total recorrida por carrera (d_t) (ver Anexo 4).

La distancia recorrida entre foto y foto se consideró equivalente a una zancada de lagartija, con base en que en la prueba piloto la distancia promedio recorrida por las lagartijas en el día pre-reto inmune (23.71 ± 1.07 cm) es similar a las distancias establecidas como zancadas de lagartija en la mayoría de los estudios (Bauwens et al. 1995; Newbold 2005; Zamora-Camacho et al. 2015; Wang et al. 2017). Con los datos obtenidos, calculamos la velocidad máxima de zancada (v_m) y la velocidad sostenida (v_s) de cada carrera con las fórmulas $v_m = d / 0.3$ s y $v_s = d_t / t_t$, respectivamente. Durante la segunda carrera individual del día pre-reto de la prueba piloto se observó fatiga en todas las lagartijas, es decir, una reducción en la V_m y la V_s de 11.70 y 10.49 cm/s, respectivamente, lo que confirma que *S. grammicus* no corre distancias largas y que 1.2 m

de largo en la pista de carreras es suficiente para obtener su V_{max} . Por lo anterior, no se promediaron los valores de v_m y v_s de las dos carreras diarias, sino que se eligieron la v_m y v_s de mayor valor por día para cada individuo para obtener ambos índices de desempeño locomotor.

7.5. Coloración

Se midió la coloración de cada lagartija con un espectrofotómetro (OceanOptics-Jaz) y una sonda de fibra óptica con fuente de luz continua (López et al. 2009a; Steffen y McGraw 2009; Weiss et al. 2012; Pérez i de Lanuza y Font 2014; Ibáñez et al. 2014; Plasman et al. 2015; Megía-Plama et al. 2016) (ver Anexo 5). El espectrofotómetro se calibró al 99% con un blanco estándar WS -1, y se ajustaron el tiempo de integración a 40000 μ s, el número de píxeles procesados en el espectro a 2048, el número de píxeles adyacentes promediados a 5, y el número de espectros promediados a 5 (datos sugeridos para reportar por White et al. 2015). Se utilizó un soporte para excluir la luz del día, ya que al ser variable podría dar lugar a datos no comparables (López et al. 2009a), y para asegurar que todas las medidas de coloración se tomarán a un ángulo de 45° y a 5 mm de la superficie ventral de las lagartijas.

De cada individuo, se tomó una medida de coloración en el área central de cada uno de sus parches ventrales: derecho e izquierdo (siempre por la misma persona). Analizamos las curvas de color de los parches ventrales azules (en machos) y anaranjados (en hembras) adaptando el método de clasificación por segmentos de Endler (1990). Añadimos el segmento UV (en hembras y machos), 300-400 nm, ya que las lagartijas

poseen conos sensibles a las longitudes UV (Olsson et al. 2013). El segmento azul (en machos) se consideró de los 450-490 nm y el segmento anaranjado (en hembras) de los 590-620 nm, según lo establecido para nuestra especie de estudio por Argaez (2015). Finalmente, agregamos el segmento rojo (621-700 nm) en hembras, ya que al analizar la curva de color encontramos más reflectancia en el segmento rojo que en el anaranjado (ver a Anexo 6 para ver las curvas de color iniciales de machos y hembras). De cada curva de reflectancia (R , fracción de luz reflejada hacia el espectrofotómetro), se reportan tres índices de coloración según Endler (1990) y White et al. (2015): (1) la reflectancia total o brillo (R_t), que es igual a la sumatoria de reflectancia de los 300-700 nm ($\sum R_{300-700\text{ nm}} = R_{300\text{ nm}} + \dots + R_{700\text{ nm}}$), (2) el tono, el cual corresponde a la reflectancia máxima (R_{max}) según el valor en nm y (3) los distintos cromas o saturaciones de color correspondientes a los segmentos descritos anteriormente (C_{UV} , C_{azul} , $C_{anaranjado}$ y C_{rojo}), los cuáles se calcularon como la reflectancia de cada segmento entre la R_t (e.g. $C_{UV} = R_{UV}/R_t$).

Para cada índice de coloración, se calculó el promedio de los valores obtenidos del parche ventral derecho e izquierdo de cada individuo. Es importante mencionar que por problemas técnicos con el espectrofotómetro, las curvas de reflectancia presentaron valores anómalos entre los 481-495 y los 524-545 nm, por lo que para todas las medidas de color, estos puntos de las curvas fueron eliminados para los análisis estadísticos (ver Anexo 6). Además, debido a que también se dañaron los datos del día dos post-reto, los datos de coloración obtenidos en dicho día no fueron incluidos en los análisis estadísticos.

7.6. Termorregulación

Como medidas de termorregulación pre-reto inmune, se utilizó la temperatura corporal (T_c) de cada lagartija al momento de captura. Lo anterior debido a que dichas medidas brindan información del estatus térmico de los individuos en condiciones naturales, donde termorregularon por horas antes de ser capturadas (Bowker 1984). En condiciones de laboratorio, la T_c post-reto se calculó a partir del promedio de medidas de temperaturas corporales individuales mientras las lagartijas tuvieron opción de regular su temperatura corporal dentro de un gradiente térmico (Bowker 1984; Deen y Hutchinson 2001; Sousa do Amaral et al. 2002; French et al. 2008; Paranjpe et al. 2014; Todd et al. 2015; Zamora-Camacho et al. 2016).

Para lo anterior, separamos a machos (n=40) de hembras (n=40) en dos terrarios (2.0 m de largo x 0.5 m de ancho x 0.5 m de alto) con paredes de plástico, de 10:00 am a 18:00 pm (Brace et al. 2015 utilizan la misma proporción de número de lagartijas y tamaño de terrario). Los terrarios contaban con rocas, troncos y acículas como refugios *ad libitum*. Se colocaron bulbos de luz blanca en un extremo de cada terrario para generar un gradiente térmico ambiental dentro del terrario, que va de 20 a 40°C (French et al. 2008; Zamora-Camacho et al. 2016), el cuál incluye la temperatura generalmente preferida por *S. grammicus* (32°C; Bastiaans et al. 2013). Una ventana en la habitación del terrario proporcionaba luz del hábitat natural de las lagartijas (Zamora-Camacho et al. 2016). Las lagartijas permanecieron de 10:00 am a 12:00 pm termorregulando en el gradiente térmico antes de la primer medida de T_c (a las 12:00), posteriormente se realizaron medidas cada dos horas hasta las 18:00 pm. Las horas entre medidas le brindan el tiempo

necesario a las lagartijas para regular la T_c por medio del comportamiento, al colocarse en la zona del gradiente térmico de su elección, y adquirir su T_c (Zamora-Camacho et al. 2016).

Para obtener un valor de T_c por día de cada lagartija, se promediaron las cuatro medidas individuales de T_c para (Bowker 1984; Deen y Hutchinson 2001; Sousa do Amaral et al. 2002; French et al. 2008; Paranjpe et al. 2014; Todd et al. 2015; Zamora-Camacho et al. 2016). Debido a que los mejores modelos de termorregulación son aquéllos que toman en cuenta los valores máximos y mínimos entre los que los animales termorregulan en lugar de los valores promedios (Birk y Heath 1975), se calculó también una medida de variación (en este caso el coeficiente de variación, CV), como indicador de la precisión de termorregulación individual, bajo el supuesto que entre más pequeño el CV , mayor precisión de termorregulación del individuo (Bowker 1984; Paranjpe et al. 2014). Todas las medidas de T_c , tanto pre como post-reto, se realizaron con una termocupla conectada a un termómetro que insertamos dentro de la cloaca de los individuos (ver Anexo 7; Zamora et al. 2016).

7.7. Análisis Estadístico

Para descartar posibles sesgos por la asignación de las lagartijas a los tratamientos e identificar posibles diferencias sexuales antes del reto inmune, se compararon las medidas iniciales de: peso, LHC, V_{max} , V_s , R_t , R_{max} , los distintos cromas (C_{UV} , C_{azul} , $C_{anaranjado}$ y C_{rojo}), T_c y su CV , utilizando modelos lineales generalizados (GLM por sus siglas en inglés) con distribución de errores normal o aproximadamente normal, determinada a través de

pruebas Shapiro. Para que todas las variables (categóricas y continuas) estuvieran en una misma escala, los datos se estandarizaron al restar a cada dato el valor de la media y dividir por dos desviaciones estándar, para que los coeficientes resultantes puedan ser comparados con predictores no transformados (Gelman 2008). Los modelos saturados incluyeron al tratamiento (LPS, PBS y sin inóculo) y sexo como variables independientes, así como su interacción. Para los índices de coloración, debido a que los parches ventrales son azules en machos y anaranjados en hembras y por lo tanto la curva de color difiere entre sexos, utilizamos modelos independientes para cada sexo, por lo que el único término en el modelo fue tratamiento.

Para evaluar los efectos del tratamiento a través del tiempo sobre los indicadores de termorregulación, desempeño locomotor y coloración, se utilizaron modelos lineales de efectos mixtos (LMM por sus siglas en inglés) con distribución de errores normal o aproximadamente normal, determinada por gráficos Q-Q (Crawley 2007). En todos los modelos se incluyó a cada individuo como factor aleatorio. Los modelos saturados incluyeron las siguientes variables independientes e interacciones: tratamiento, sexo, tiempo, tiempo², peso, tratamiento x tiempo, tratamiento x tiempo², sexo x tiempo, sexo x tiempo², tratamiento x sexo, tratamiento x tiempo x sexo y tratamiento x tiempo² x sexo. De todos los modelos, excluimos la LHC para evitar colinealidad, ya que ésta estuvo correlacionada con el peso ($r = 0.856$; $P < 0.001$). Para los análisis de los índices de color también se usaron modelos independientes para cada sexo.

Para todos los modelos, tanto GLM como LMM, se realizó una reducción de modelos de la siguiente manera. Primero se fueron eliminando de una en una las variables

no significativas del modelo saturado ($P > 0.05$). Después, se compararon los modelos con y sin las variables no significativas, eliminándose los modelos no significativos ($P > 0.05$), y así sucesivamente hasta llegar a un modelo reducido (Forstmeir y Schielzeth 2011), el cuál se comparó contra un modelo nulo. La comparación de modelos GLM se realizó a través de pruebas de F y se reportan en la Tabla 2; mientras que la comparación de modelos LMM se realizó a través de pruebas de razón de verosimilitud (L -ratio) y se reportan a lo largo del escrito. En las Tablas 3-6 se reportan los LMM con la interacción de interés, tratamiento x t, así como los modelos reducidos en caso de que no sea significativa la interacción de interés. Todos los análisis se llevaron a cabo en el programa R v3.3.3 (R Development Core Team 2017), utilizando el paquete “nlme” (Pinheiro et al. 2017) para los GLM; y el paquete “lme4” para los LMM (Bates et al. 2015).

8. RESULTADOS

8.1. Antes del reto inmune

Las lagartijas utilizadas en nuestro estudio presentaron el dimorfismo sexual en peso y LHC típico de la especie: los machos fueron 29.45% más pesados (Coeficiente = 2.47, EE = 0.55, IC= 1.40 - 3.54, $p < 0.000$) y 8.52% más grandes (Coeficiente = 0.04, EE = 0.01, IC = 0.13 – 0.61, $p = 0.004$) que las hembras (Tabla 2). No se obtuvieron diferencias sexuales iniciales para el resto de las medidas, aunque esperábamos diferencias sexuales en el desempeño locomotor (Tabla 2). Y de acuerdo a lo esperado, tampoco se encontraron diferencias pre-reto entre los individuos de los tres tratamientos en: peso, LHC, índices de desempeño locomotor, coloración y termorregulación (Fig. 2-5; Tabla 2).

Tabla 2. Datos crudos (Promedio \pm EE) y resultados de los modelos lineales generalizados para investigar si antes del reto inmune existen diferencias por sexo, tratamiento o su interacción, en: peso, LHC, índices de desempeño locomotor, coloración y termorregulación. En negritas los términos significativos.

n= 40 machos, 40 hembras.

Variable	Sexo	LPS	PBS	Sin inóculo	Tratamiento		Sexo		Tratamiento x Sexo	
		(Promedio \pm EE) n= 15 ♀ y 15 ♂	(Promedio \pm EE) n= 15 ♀ y 15 ♂	(Promedio \pm EE) n= 10 ♀ y 10 ♂	F	p	F	p	F	p
Peso (g)	♀	6.04 \pm 0.29	5.97 \pm 0.31	6.04 \pm 0.46	0.25	0.62	20.56	0.000	1.12	0.30
	♂	8.56 \pm 0.68	8.59 \pm 0.74	8.37 \pm 0.94						
LHC (cm)	♀	60.73 \pm 1.24	57.33 \pm 1.76	59.20 \pm 1.60	0.79	0.38	9.10	0.004	0.51	0.48
	♂	64.87 \pm 2.08	64.47 \pm 1.96	64.30 \pm 2.58						
V_{max} (cm/s)	♀	80.57 \pm 7.04	94.67 \pm 6.34	81.56 \pm 4.87	0.06	0.80	0.46	0.50	0.16	0.69
	♂	86.62 \pm 3.20	88.87 \pm 5.09	77.89 \pm 2.59						
V_s (cm/s)	♀	52.71 \pm 4.46	53.60 \pm 3.19	50.11 \pm 3.81	1.14	0.29	0.02	0.88	0.10	0.75
	♂	55.00 \pm 2.39	56.20 \pm 2.88	47.00 \pm 2.66						
T_c (°C)	♀	30.05 \pm 0.33	30.93 \pm 0.41	30.61 \pm 0.76	0.02	0.89	2.97	0.09	0.87	1.18
	♂	32.37 \pm 0.65	30.98 \pm 0.59	30.28 \pm 0.70						
CV de T_c	♀	0.15 \pm 0.02	0.14 \pm 0.03	0.13 \pm 0.03	0.51	0.48	0.24	0.62	2.69	0.11
	♂	0.10 \pm 0.01	0.15 \pm 0.02	0.14 \pm 0.03						
R_t	♀	21969.93 \pm 3456.74	23182.69 \pm 1348.40	23634.40 \pm 1699.81	2.10	0.16	-	-	-	-
	♂	17652.14 \pm 1516.12	18019.97 \pm 930.88	19237.86 \pm 842.36	2.82	0.11	-	-	-	-
R_{max}	♀	495.70 \pm 7.90	496.32 \pm 11.09	485.63 \pm 6.56	0.01	0.91	-	-	-	-
	♂	619.81 \pm 3.27	634.30 \pm 5.07	618.87 \pm 4.5	0.45	0.51	-	-	-	-
C_{UV}	♀	0.02 \pm 0.00	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.55	0.46	-	-	-	-
	♂	0.06 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.51	0.48	-	-	-	-
C_{azul}	♀	0.17 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	0.005	0.94	-	-	-	-
$C_{anaranjado}$	♀	0.16 \pm 0.01	0.17 \pm 0.00	0.16 \pm 0.00	0.0002	0.99	-	-	-	-
C_{rojo}	♀	0.39 \pm 0.01	0.44 \pm 0.02	0.41 \pm 0.02	0.30	0.59	-	-	-	-

LHC: longitud hocico-cloaca; V_{max} : velocidad máxima, V_s : velocidad sostenida, T_c : temperatura corporal, CV de T_c : coeficiente de variación de la T_c ; R_t : reflectancia total; R_{max} : reflectancia máxima; C_{UV} : croma UV; C_{azul} : croma azul; $C_{anaranjado}$: croma anaranjado; C_{rojo} : croma rojo; ♂: machos; ♀: hembras.

8.2. Después del reto inmune

Contrario a nuestras predicciones, no se encontraron efectos del tratamiento a través del tiempo (lineal o cuadrático) en ninguno de los índices de desempeño locomotor, coloración y termorregulación (todos los LMM's: $p \geq 0.25$ Tablas 3-6; Figs. 2-5).

Independientemente del tratamiento o el sexo, todas las lagartijas mostraron variaciones a lo largo del tiempo que duró el experimento en la mayoría de los índices de desempeño locomotor, coloración, y termorregulación: como efecto del tiempo², disminuyeron su

V_{max} y aumentaron su T_c durante el tercer día post-reto, restableciendo los valores

iniciales durante los próximos dos días post-reto (LMM's: L-ratio = 4.52, $p = 0.03$ y L-ratio = 9.28, $p = 0.002$; Fig. 2 y 3; Tablas 3 y 4, respectivamente). Además, el CV de la T_p de todas las lagartijas disminuyó a través del tiempo, es decir, las lagartijas mantuvieron su T_c dentro de un intervalo más estrecho de temperaturas al paso de los días (LMM: L-ratio = 5.23, $p = 0.02$; Fig. 3; Tabla 4). Los cambios en la V_s en el tiempo no fueron estadísticamente significativos (LMM: L-ratio = 2.47, $p = 0.12$; Figs. 2; Tabla 3).

Independiente del día y del tratamiento, obtuvimos diferencias sexuales, contrario a los resultados iniciales. Los machos prefirieron una T_c más alta que las hembras (LMM: L-ratio = 7.92, $p = 0.005$; Fig. 4; Tabla 4). Y el CV de la T_c fue menor en machos que en hembras; es decir, los machos mantuvieron su T_c dentro de intervalos menos estrechos de temperatura (LMM: L-ratio = 11.08, $p = 0.0009$; Fig. 5; Tabla 4).

En el caso de la coloración ventral, los machos de los tres tratamientos presentaron una disminución lineal en el tiempo a partir del primer día post-reto en la R_t (LMM: L-ratio = 6.03, $p = 0.01$; Fig. 5; Tabla 5) y el C_{UV} (L-ratio = 24.04, $p < 0.0001$; Fig. 5; Tabla 5), así como una relación negativa entre el C_{UV} y el peso (LMM: L-ratio = 7.07, $p = 0.008$; Tabla 5); mientras que para el C_{azul} se observó un aumento lineal en el tiempo a partir del primer día post-reto (LMM: L-ratio = 12.41, $p = 0.0004$; Fig. 5; Tabla 5), así como una relación positiva entre éste y el peso (LMM: L-ratio = 5.10, $p = 0.02$; Tabla 5). En el caso de la R_{max} del vientre de los machos, los cambios en el tiempo no fueron estadísticamente significativos (LMM: L-ratio = 1.63, $p = 0.20$; Fig. 5; Tablas 5). Y para la coloración de las hembras de los tres tratamientos se observó una disminución lineal en la R_t a través de los días post-reto (LMM: L-ratio = 5.86, $p = 0.02$; Fig. 6; Tabla 6), mientras

que para la R_{max} y el C_{UV} se observó un aumento en los primeros días post-reto seguido de una disminución en los últimos días post-reto por efecto del tiempo², (LMM's: L-ratio = 7.24, $p = 0.007$ y L-ratio = 8.62, $p = 0.003$, respectivamente; Fig. 6; Tabla 6). El $C_{anaranjado}$ mostró un aumento gradual desde los primeros días post-reto (LMM: L-ratio = 11.70, $p = 0.0006$; Fig. 6; Tabla 6) mientras que en el C_{rojo} se observó una disminución durante los primeros días post-reto seguido de un aumento en los últimos días post-reto por efecto del tiempo² (LMM: L-ratio = 6.41, $p = 0.01$; Fig. 6; Tabla 6).

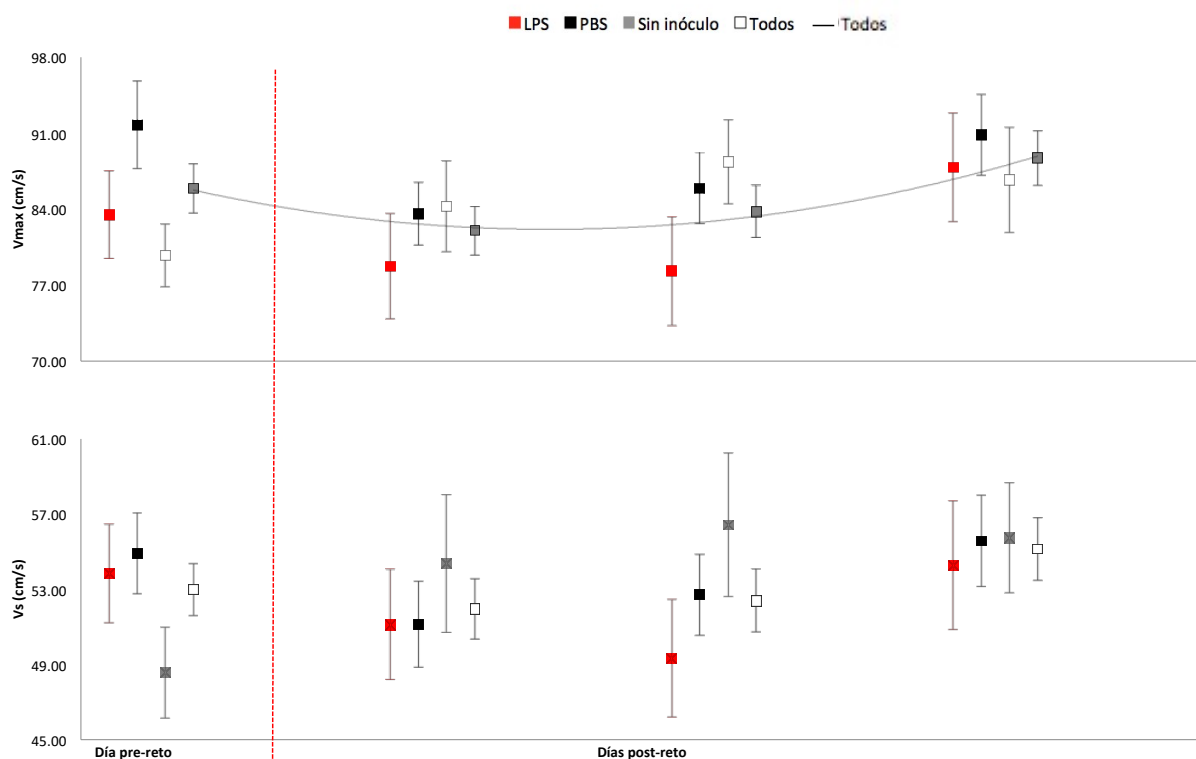


Figura 2. No hay diferencias según el tratamiento (LPS, PBS y sin inóculo) a través de los días pre y post-reto inmune, en la velocidad máxima (V_{max}) y velocidad sostenida (V_s), en lagartijas machos y hembras. La línea roja punteada divide la gráfica en el día pre-reto y en los días 3-5 post-reto. La línea gris muestra el cambio a través del tiempo² en todas las lagartijas. Las gráficas se realizaron con los datos crudo (Promedio \pm EE). $n = 38$ machos, 40 hembras.

Tabla 3. Resultados de los modelos lineales de efectos mixtos, con la identidad del individuo como variable aleatoria, para investigar el efecto del tratamiento a través del tiempo sobre la velocidad máxima (V_{max}) y la velocidad sostenida (V_s), en lagartijas machos y hembras. No se obtuvieron efectos del tratamiento a través del tiempo en ningún caso. En negritas los términos significativos de los modelos reducidos. n = 38 machos, 40 hembras

	<i>Estimado</i>	<i>EE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>V_{max}</i>				
(Intercepto)	-0.08	0.06	-1.34	0.18
Tratamiento	0.02	0.09	0.27	0.79
Tiempo	0.19	0.08	2.53	0.01
Tiempo²	0.32	0.15	2.13	0.04
Tratamiento x Tiempo	0.01	0.11	0.14	0.89
<i>V_s</i>				
(Intercepto)	0.002	0.04	0.06	0.95
Tratamiento	0.03	0.09	0.35	0.73
Tiempo	0.09	0.05	1.58	0.12
Tratamiento x Tiempo	0.12	0.11	1.14	0.26

Los modelos iniciales incluyeron los siguientes variables independientes e interacciones: tratamiento + tiempo + tiempo² + peso + sexo + tratamiento x tiempo + tratamiento x tiempo² + tratamiento x sexo + sexo x tiempo + sexo x tiempo² + tratamiento x tiempo x sexo + tratamiento x tiempo² x sexo.

En el caso de V_s , el modelo no difiere del modelo nulo.

Efectos aleatorios: $V_{max} = 0.25$; $V_s = 0.2$

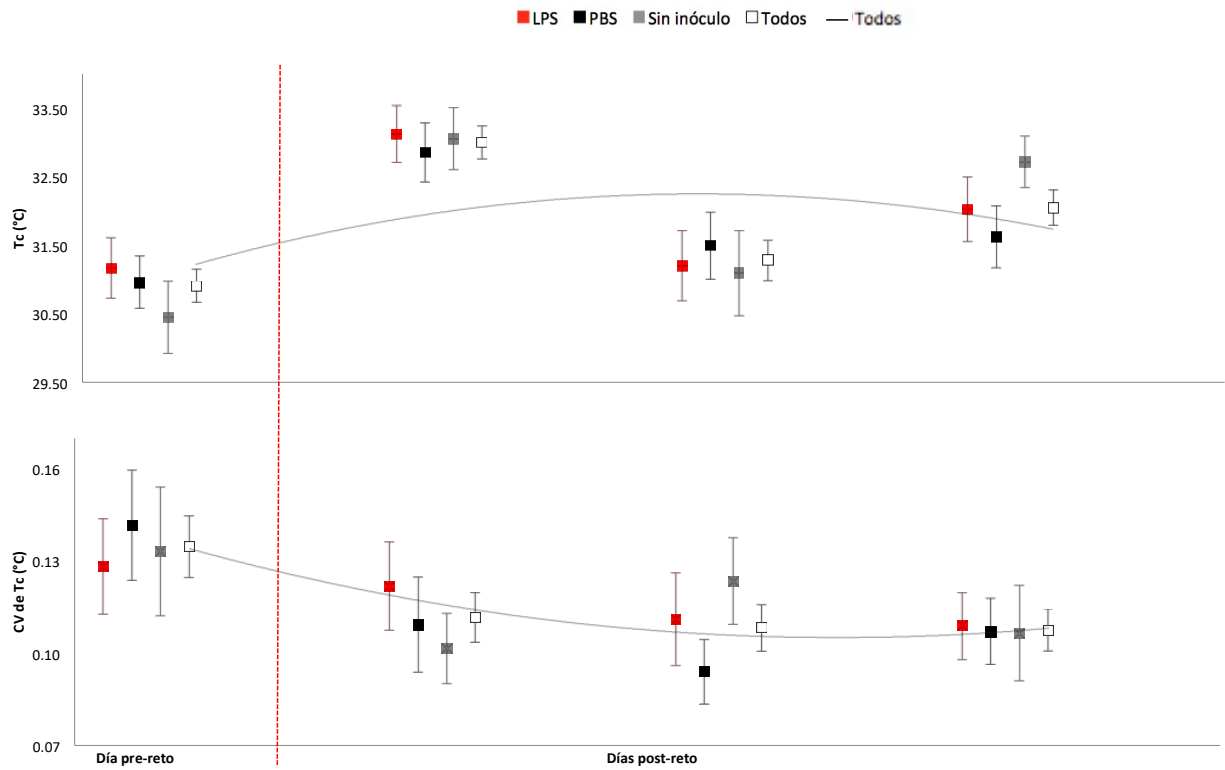


Figura 3. No hay diferencias según el tratamiento (LPS, PBS y sin inóculo) a través de los días pre y post-retro inmune, en la temperatura corporal (T_c) y su coeficiente de variación (CV de T_c), en lagartijas machos y hembras. La línea roja punteada divide la gráfica en el día pre-retro y en los días 3-5 post-retro. Las líneas grises muestran el cambio a través del tiempo² en todas las lagartijas. Las gráficas se realizaron con los datos crudo (Promedio \pm EE). $n = 38$ machos, 40 hembras.

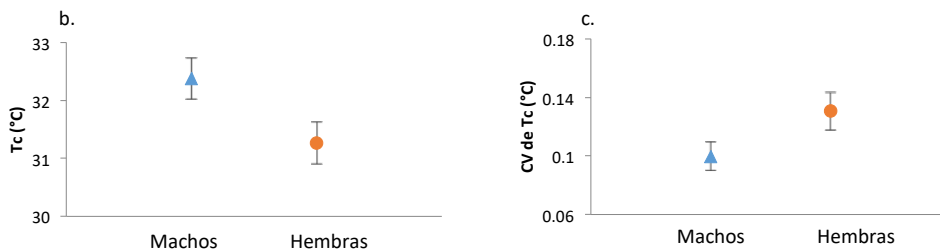


Figura 4. Diferencias sexuales en la temperatura preferida (T_p) y su coeficiente de variación (CV de T_c). Las gráficas se realizaron con los datos crudos (Promedio de todos los días \pm EE). $n = 38$ machos, 40 hembras.

Tabla 4. Resultados de los modelos lineales de efectos mixtos, con la identidad del individuo como variable aleatoria, para investigar el efecto del tratamiento a través del tiempo sobre la temperatura corporal promedio (T_c) y su coeficiente de variación (CV de T_c), en lagartijas machos y hembras. No se obtuvieron efectos del tratamiento a través del tiempo en ningún caso. En negritas los términos significativos de los modelos reducidos. n = 38 machos, 40 hembras

	<i>Estimado</i>	<i>EE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>T_c</i>				
(Intercepto)	0.11	0.05	2.12	0.04
Sexo	0.27	0.08	3.46	0.001
Tratamiento	-0.006	0.08	-0.08	0.94
Tiempo	-0.01	0.08	-0.15	0.88
Tiempo²	-0.45	0.15	-3.06	0.002
Tratamiento x Tiempo	0.03	0.11	0.28	0.78
<i>CV de T_c</i>				
(Intercepto)	0.0006	0.04	0.02	0.10
Sexo	-0.21	0.07	-2.90	0.005
Tratamiento	-0.04	0.07	-0.51	0.61
Tiempo	-0.14	0.06	-2.29	0.02
Tratamiento x Tiempo	0.12	0.12	1.00	0.32

Los modelos iniciales incluyeron los siguientes variables independientes e interacciones: tratamiento + tiempo + tiempo² + peso + sexo + tratamiento x tiempo + tratamiento x tiempo² + tratamiento x sexo + sexo x tiempo + sexo x tiempo² + tratamiento x tiempo x sexo + tratamiento x tiempo² x sexo.

Efectos aleatorios: $T_c = 0.24$; CV de $T_c = 0.1$

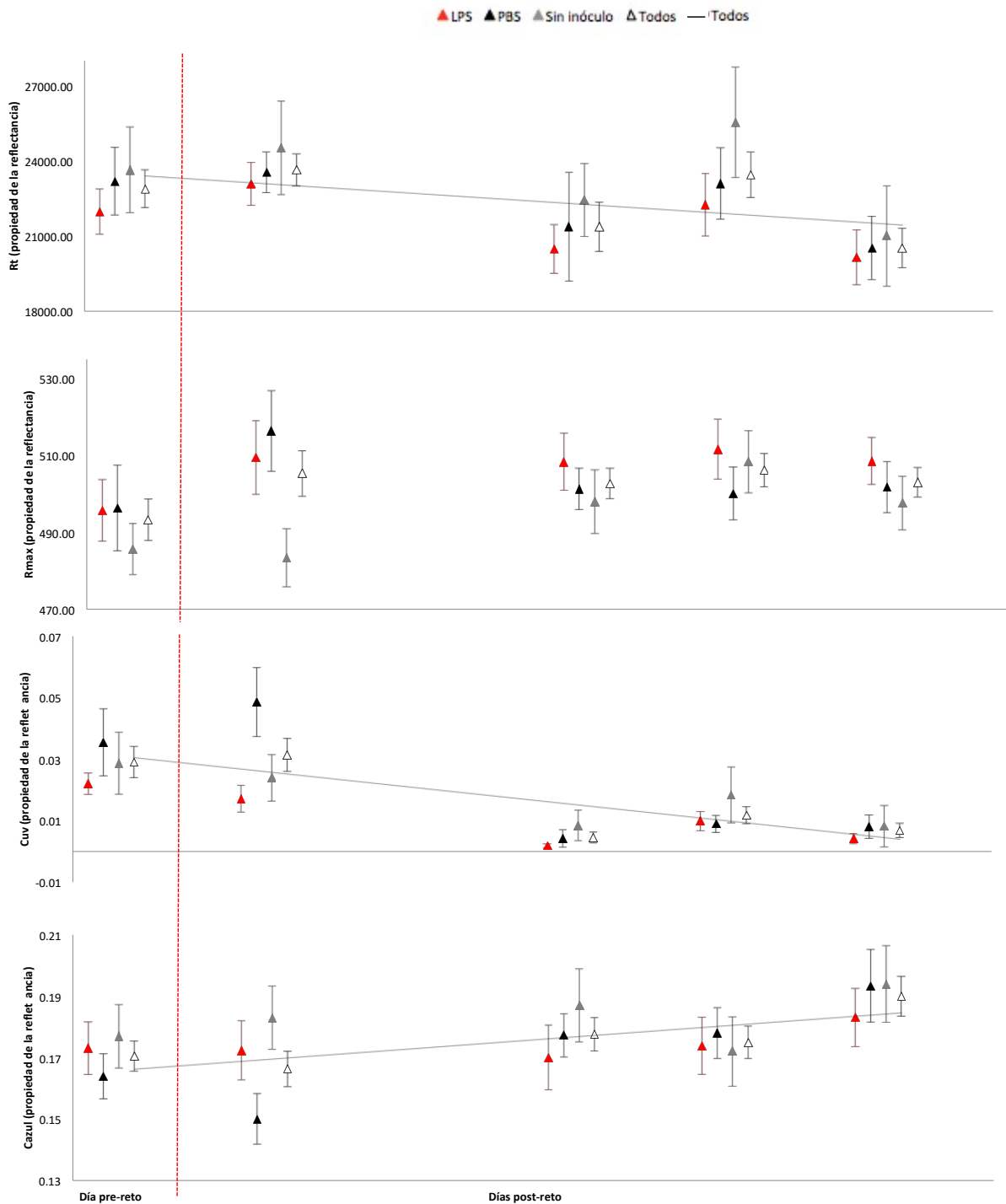


Figura 5. No hay diferencias según el tratamiento (LPS, PBS y sin inóculo) a través de los días pre y post-reto inmune, en la reflectancia total (R_t), el tono (R_{max}), el cromatismo UV (C_{uv}) y el cromatismo azul (C_{azul}), en lagartijas machos. La línea roja punteada divide la gráfica en el día pre-reto y en los días 1,3-5 post-reto. Las líneas grises muestran el cambio a través del tiempo en todas las lagartijas. Las gráficas se realizaron con los datos crudos (Promedio \pm EE). n = 38 machos

Tabla 5. Resultados de los modelos lineales de efectos mixtos, con la identidad del individuo como variable aleatoria, para investigar el efecto del tratamiento a través del tiempo sobre la reflectancia total (R_t), el tono (R_{max}), el croma UV (C_{UV}) y el croma azul (C_{azul}), en lagartijas machos. No se obtuvieron efectos del tratamiento a través del tiempo en ningún caso. En negritas los términos significativos de los modelos reducidos. n = 38 machos

	<i>Estimado</i>	<i>EE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>R_t</i>				
(Intercepto)	0.0006	0.07	-0.008	0.10
Tratamiento	0.20	0.14	1.40	0.17
Tiempo	-0.16	0.06	-2.47	0.02
Tratamiento x Tiempo	-0.002	0.13	-0.01	0.99
<i>R_{max}</i>				
(Intercepto)	0.00005	0.07	0.0007	0.10
Tratamiento	-0.14	0.14	-1.002	0.33
Tiempo	0.08	0.06	1.28	0.20
Tratamiento x Tiempo	0.14	0.13	1.04	0.30
<i>C_{UV}</i>				
(Intercepto)	0.47	0.17	2.72	0.008
Tratamiento	0.08	0.11	0.70	0.49
Tiempo	-0.34	0.07	-5.13	0.000
Peso	-0.06	0.02	-2.87	0.008
Tratamiento x Tiempo	0.01	0.13	-0.07	0.94
<i>C_{azul}</i>				
(Intercepto)	-0.51	0.23	-2.18	0.03
Tratamiento	0.08	0.15	0.50	0.62
Tiempo	0.18	0.05	3.59	0.000
Peso	0.06	0.03	2.29	0.03
Tratamiento x Tiempo	0.06	0.10	-0.63	0.53

Los modelos iniciales incluyeron las siguientes variables independientes: tratamiento + tiempo + tiempo² + peso + tratamiento x tiempo + tratamiento x tiempo².

En el caso de R_{max} , el modelo no es diferente del modelo nulo.

Efectos aleatorios: $R_t = 0.33$; $R_{max} = 0.32$; $C_{UV} = 0.23$; $C_{azul} = 0.40$

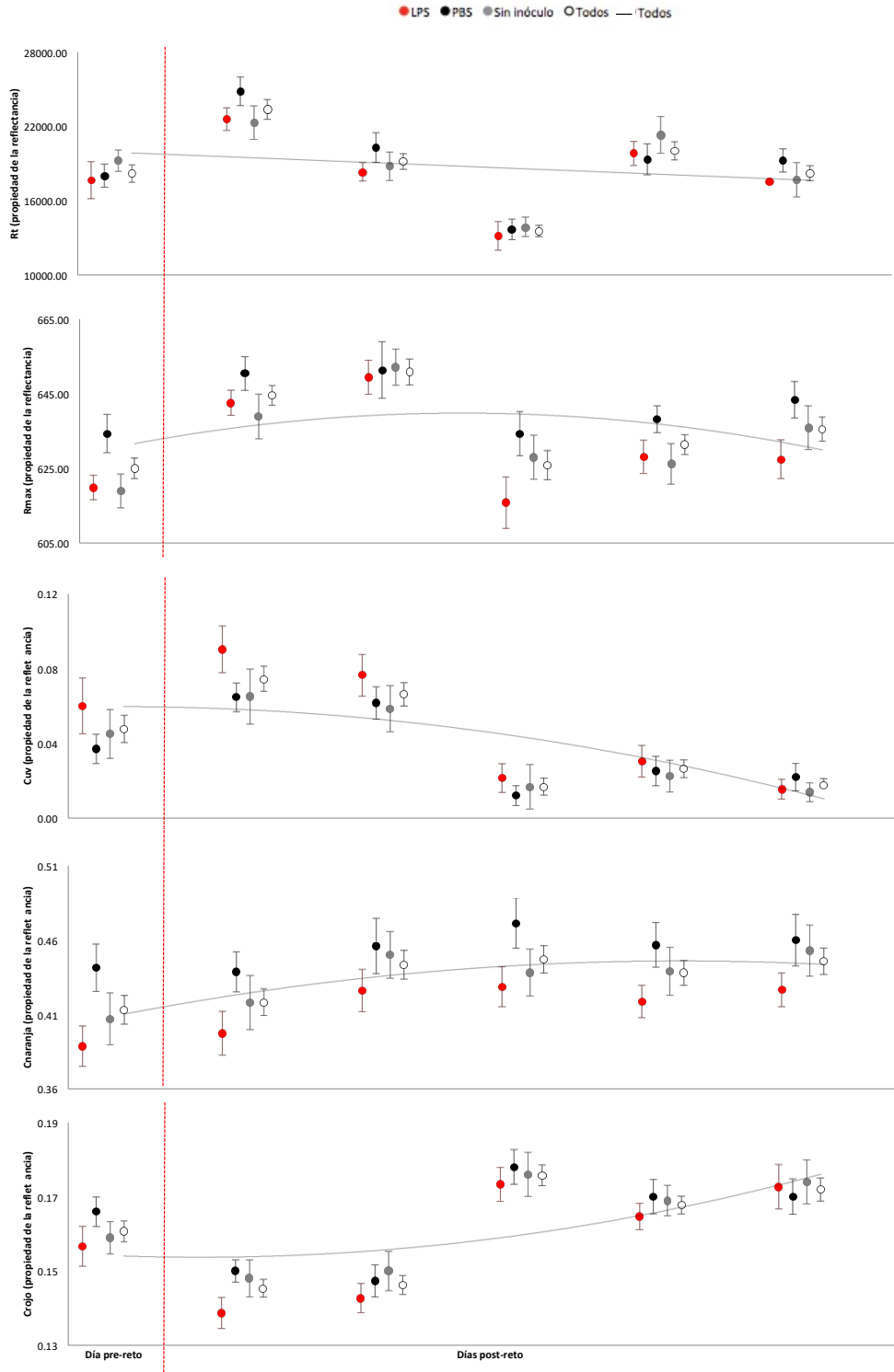


Figura 6. No hay diferencias según el tratamiento (LPS, PBS y sin inóculo) a través de los días pre y post-reto inmune, en la reflectancia total (R_t), el tono (R_{max}), el cromó UV (C_{uv}), el cromó anaranjado ($C_{naranja}$) ni el cromó rojo (C_{rojo}), en lagartijas hembras. La línea roja punteada divide la gráfica en el día pre-reto y en los días 1,3-5 post-reto. Las líneas grises muestran el cambio a través del tiempo y del tiempo² en todas las lagartijas. Las gráficas se realizaron con los datos crudos (Promedio \pm EE). n = 40 hembras

Tabla 6. Resultados de los modelos lineales de efectos mixtos, con la identidad del individuo como variable aleatoria, para investigar el efecto del tratamiento a través del tiempo sobre la reflectancia total (R_t), el tono (R_{max}), el croma UV (C_{UV}), el croma anaranjado ($C_{anaranjado}$) y el croma rojo (C_{rojo}), en lagartijas hembras. No se obtuvieron efectos del tratamiento a través del tiempo en ningún caso. En negritas los términos significativos de los modelos reducidos. n = 40 hembras

	<i>Estimado</i>	<i>EE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>R_t</i>				
(Intercepto)	-0.000	0.05	-0.002	0.10
Tratamiento	0.08	0.11	0.72	0.48
Tiempo	-0.14	0.06	-2.43	0.02
Tratamiento x Tiempo	-0.03	0.11	-0.26	0.80
<i>R_{max}</i>				
(Intercepto)	0.09	0.06	1.34	0.18
Tratamiento	0.10	0.11	0.93	0.36
Tiempo	-0.04	0.05	-0.65	0.52
Tiempo²	-0.34	0.13	-2.70	0.008
Tratamiento x Tiempo	0.12	0.11	1.11	0.27
<i>C_{UV}</i>				
(Intercepto)	0.07	0.07	1.07	0.28
Tratamiento	-0.12	0.12	-0.97	0.34
Tiempo	-0.39	0.04	-9.48	0.000
Tiempo²	-0.28	0.10	-2.95	0.004
Tratamiento x Tiempo	0.13	0.08	1.61	1.11
<i>C_{anaranjado}</i>				
(Intercepto)	-0.09	0.06	-1.43	0.16
Tratamiento	0.07	0.11	0.64	0.53
Tiempo	0.38	0.05	8.38	0.000
Tiempo²	0.37	0.11	3.45	0.000
Tratamiento x Tiempo	-0.10	0.09	-1.06	0.29
<i>C_{rojo}</i>				
(Intercepto)	0.04	0.08	0.57	0.57
Tratamiento	0.16	0.15	1.09	0.28
Tiempo	0.20	0.03	7.26	0.000
Tiempo²	-0.16	0.06	-2.54	0.01
Tratamiento x Tiempo	-0.02	0.06	-0.28	0.78

Los modelos iniciales incluyeron las siguientes variables independientes: tratamiento + tiempo + tiempo² + peso + tratamiento x tiempo + tratamiento x tiempo².

Efectos aleatorios: $R_t = 0.27$; $R_{max} = 0.29$; $C_{UV} = 0.34$; $C_{anaranjado} = 0.31$; $C_{rojo} = 0.44$

9. DISCUSIÓN

9.1. Ausencia de disyuntivas

Los resultados de este estudio sugieren que en machos y hembras de *S. grammicus* después de un reto inmune con LPS durante la época reproductiva no se comprometieron el desempeño locomotor, la coloración ni la termorregulación (Tabla 7). En general, el uso del LPS como método para evaluar el costo de montar una respuesta inmune ha sido utilizado con éxito en lagartijas (Tabla 1) y otros reptiles (Ibáñez et al. 2014; Todd et al. 2016), así como en aves (Torres y Velando 2007; Velando et al. 2014; Maston et al. 2015) y mamíferos (Arsenault et al. 2014). Sin embargo, también existen casos en los que no se obtienen disyuntivas de historia de vida en lagartijas y mamíferos después de un reto inmune con LPS (Stockmaier et al. 2015; Smith et al. 2017). Además, estudios con otros inmunogénicos, como bacterias vivas o muertas, ectoparásitos o hemoparásitos, tampoco han obtenido las disyuntivas esperadas en distintos reptiles (Laburn et al. 1981; Zurovsky et al. 1987; Hallman et al. 1990; Schall, 1990; Ortega et al. 1991; Don et al. 1994; Burns et al. 1996) y otros ectotermos como peces (Marx et al. 1984).

La aparente ausencia de compromisos en estudios de retos inmunes puede deberse a errores durante el método para activar el sistema inmune, entre los que se cuentan el uso de una dosis de inmunogénico inapropiada o un error en la temporalidad de las medidas post-reto. Sin embargo, el protocolo experimental que seguimos es similar, en los aspectos mencionados, al usado en estudios en lagartijas que han utilizado LPS: (1) para provocar que los individuos monten una respuesta inmune y en los que se ha medido y encontrado un incremento en diversos componentes del sistema inmune, como en el

porcentaje de fagocitosis de las células del vaso y en la concentración de anticuerpos específicos al LPS (Saad y El Deeb 1990; Mondal y Rai 2001; Mondal y Rai 2002; Brace et al. 2015), así como (2) para investigar si existen disyuntivas con otras funciones ligadas a la adecuación, como la termorregulación, el desempeño locomotor y la coloración, y en los que se han encontrado disyuntivas (ver Tabla 1). Con la excepción de que otros estudios han buscado disyuntivas entre coloración y sistema inmune un mes después del reto inmune (Ibáñez et al. 2014; López et al. 2009a), y no unas horas después como hicimos en este estudio.

A pesar de esa diferencia en el método, se sabe que los cambios en la coloración son dinámicos y a corto plazo, es decir ocurren de un día a otro, en lagartijas del mismo género que la especie de estudio (Langkilde y Boronow 2012) y en la especie de estudio (Fuentes *en prep.*). Igualmente, se sabe que en lagartijas por lo general los cambios en la termorregulación y el desempeño locomotor son dinámicos (Deen y Hutchison 2001; Merchant et al. 2008; Zamora-Camacho et al. 2015; Zamora-Camacho et al. 2016; Iglesias-Carrasco et al. 2016). Además, los cambios a través del tiempo obtenidos en este estudio corroboran que los tres aspectos que medimos de *S. grammicus* son dinámicos. Por lo tanto, aunque una limitante del presente estudio es que no se midieron los niveles de anticuerpos específicos a LPS para evaluar si la aplicación del reto inmune efectivamente produjo la respuesta inmune esperada, es poco probable que la falta de compromisos entre montar una respuesta inmune y el desempeño locomotor, la termorregulación y la coloración desplegada por la lagartija del mezquite se deba a un problema con la dosis aplicada o la temporalidad de las medidas post-reto.

Otros factores que podrían haber influido en los resultados obtenidos en este estudio son la condición inicial de los individuos y la cantidad de alimento que recibieron durante el experimento, ya que aquellos individuos con mejor condición y más recursos alimenticios pueden cubrir mejor los costos de los distintos rasgos de historia de vida (Stearns 1992; ver ejemplo en Husak et al. 2016). Sin embargo, en nuestro estudio, las lagartijas en los diferentes tratamientos no difirieron en la LHC, el peso inicial (Tabla 3), ni el peso final ($t = 0.61$, $p = 5.46$). Además en otros experimentos de retos inmunes, a pesar de que las lagartijas son alimentadas *ad libitum*, siguen presentando disyuntivas de historia vida (Zamora-Camacho et al. 2015, Zamora-Camacho et al. 2016; Iglesias-Carrasco et al. 2016). Por lo que no es probable que la condición inicial o la alimentación durante el experimento hayan influido en los resultados encontrados.

Asumiendo que las lagartijas que recibieron un reto inmune en nuestro experimento montaron una respuesta inmune, existen varias explicaciones biológicas que podrían explicar nuestros resultados. Primeramente, algunos parásitos no están asociados con los costos que generalmente son esperados, por lo que el no encontrar compromisos entre las variables estudiadas podría deberse a que no se midieron los atributos adecuados. Por ejemplo, en *Uta stansburiana*, la inversión reproductiva y la condición corporal no están relacionadas con su carga parasitaria, mientras que ésta última si está relacionada positivamente con la actividad para matar bacterias (medida del sistema inmune) (Spence et al. 2016). Los resultados del estudio anterior indican que a pesar de que la presencia de parásitos activó el sistema inmune, éste último no comprometió los rasgos de historia de vida medidos. Que no se hayan medido los atributos adecuados en

nuestro estudio es poco probable, ya que medimos algunos de los rasgos principales de la supervivencia y reproducción de las lagartijas, que además se relacionan fisiológicamente con el sistema inmune.

Alternativamente, es posible que por efecto de factores extrínsecos, como la altitud y/o la calidad térmica del ambiente, se pueda generar variación interpoblacional o individual en la activación del sistema inmune, como sucede con otros rasgos de historia de vida de *S. grammicus* (Lemos-Espinal y Ballinger 1995; Ortega-Rubio et al. 1999; Zúñiga-Vega et al. 2008; Gómez *en prep.*). Por ejemplo, en algunas montañas volcánicas del centro de México, las poblaciones de *S. grammicus* que habitan zonas de baja altitud (2 480 msnm) tienen una tasa de crecimiento más rápida, y por lo tanto alcanzan el tamaño de maduración más rápido y la edad de maduración más temprano, en comparación a poblaciones que habitan sitios más elevados (3 200-4 400 msnm) (Lemos-Espinal y Ballinger 1995; Ortega-Rubio et al. 1999; Zúñiga-Vega et al. 2008). Zúñiga-Vega et al. (2008), sugieren que lo anterior podría ser explicado porque los individuos de baja altitud pueden mantener una temperatura corporal óptima por periodos de tiempo más largos, lo que optimiza la eficiencia metabólica y por consiguiente el crecimiento, así como otras funciones de las lagartijas (Shine 2005).

En otro estudio, realizado también en el Parque Nacional La Malinche, se obtuvo experimentalmente que independientemente de la altitud (2 600, 3 100 y 4 200 msnm), cuando un organismo de *S. grammicus* tiene acceso a poder mantener una temperatura corporal por arriba de 30°C el desempeño locomotor se optimiza (Gómez *en prep.*); y que los individuos que viven a altitudes intermedias (3 100 msnm) tienen el mayor desempeño

locomotor, quizá por tener acceso a mejores recursos térmicos. Por lo tanto, de acuerdo a nuestros resultados, es posible que durante la época reproductiva, las lagartijas de *S. grammicus* que habitan a 2 400 msnm en el volcán La Malinche y/o que tienen acceso a mantener temperatura corporal óptima, cuenten con los recursos necesarios para defenderse de patógenos sin desviar recursos de otros componentes importantes de vida como la coloración y el desempeño locomotor.

Por otro lado, se sabe que varias especies de lagartijas invierten en la defensa inmune (o en la reproducción) en función de lo largo (o corto) de su ciclo de vida, está última, característica que suele estar relacionada con el gradientes latitudinal o altitudinal (Scharf et al. 2015). Por ejemplo, Smith et al. (*en prep.*) encontraron que lagartijas *Uta* sp. de latitudes más bajas son de vida más corta e invierten más en la reproducción que en el sistema inmune; mientras que individuos más norteños de vida larga invierten de manera inversa. Los autores sugieren que los resultados anteriores se deben a que en latitudes más bajas, las lagartijas priorizan la reproducción inmediata, lo que trae consecuencias en la supervivencia futura; mientras que en latitudes mayores invierten más en el sistema inmune, con lo que se incrementarían sus probabilidades de sobrevivir y reproducirse en temporadas posteriores. Por lo tanto, de acuerdo a la hipótesis anterior y a nuestros resultados, es posible que las lagartijas utilizadas en este estudio, de latitudes (o altitudes) bajas, tengan ciclos de vida más cortos e inviertan más en la reproducción inmediata. Lo que implicaría que al activar una respuesta inmune no asignen recursos y por consiguiente que no se generen disyuntivas entre activar el sistema inmune y la coloración o el desempeño locomotor, así como consecuencias en su supervivencia futura. Para

comprobar si esto es lo que pasa en *S. grammicus*, sería necesario realizar un estudio similar al nuestro en individuos de latitudes (o altitudes), en los que sí se esperarían disyuntivas entre la función inmune y el desempeño locomotor y/o la coloración, así como ciclos de vida más largos.

Finalmente, no podemos descartar que las lagartijas de este estudio posiblemente sufrieron inmunosupresión, por efecto de la testosterona (Olsson 2000) o por altos niveles de estrés ocasionados por el cautiverio y la manipulación (Dhabhar y McEwen 1997). El efecto de una inmunosupresión da como resultado que los niveles de actividad del sistema inmune disminuyan, más no que se inhiban por completo (Mondal y Rai 2002). Por lo tanto, sugerimos que si se presentó dicha inmunosupresión durante nuestro experimento, ésta última no podría haber enmascarado por completo que los individuos experimentales presentaran: fiebre, una disminución en el desempeño locomotor y/o una disminución en la coloración a comparación de los individuos controles.

Tabla 7. Resumen de los términos que tuvieron efecto sobre los índices de desempeño locomotor, termorregulación y coloración. Con * los términos significativos.

	Tratamiento	Tiempo	Tiempo ²	Sexo	Peso	Tratamiento x Tiempo	Tratamiento x Tiempo ²	Sexo x Tiempo	Sexo x Tiempo ²	Tratamiento x Sexo x Tiempo	Tratamiento x Sexo x Tiempo ²
♂♀ V_{max}		*	*								
♂♀ V_s											
♂♀ T_c		*	*	*							
♂♀ $T_c \text{ de CV}$		*		*							
♂ R_t		*									
♂ R_{max}											
♂ C_{UV}		*			*						
♂ C_{azul}		*			*						
♀ R_t		*									
♀ R_{max}		*	*								
♀ C_{UV}		*	*								
♀ $C_{anaranjado}$		*	*								
♀ C_{rojo}		*	*								

V_{max} : velocidad máxima; V_s : velocidad sostenida; T_c : temperatura corporal; $T_c \text{ de CV}$: coeficiente de variación de la T_c ; R_t : reflectancia total; R_{max} : reflectancia máxima; C_{UV} : croma UV; C_{azul} : croma azul; $C_{anaranjado}$: croma anaranjado; C_{rojo} : croma rojo; ♂: macho; ♀: hembra.

9.2. Cambios a través del tiempo

Independientemente del tratamiento, las lagartijas experimentaron cambios a lo largo del tiempo que duró el experimento en todas las variables estudiadas (Tabla 7). Estos cambios podrían estar relacionados con altos niveles de estrés y un consecuente incremento crónico en los niveles de glucocorticoides, resultado de la manipulación. A continuación mencionaré tres de los efectos del estrés crónico que tienen relevancia para explicar nuestros resultados. El primero es que, en algunos reptiles, la manipulación excesiva (inocular a los individuos, cambiarlos de jaula varias veces al día, medirlos varias veces al

día, entre otros) causa un tipo de fiebre conocida como fiebre emocional, como se demostró en tortugas *Clemmys insculpta* y lagartijas *Callopietes maculatus* (Cabanac y Gosselin 1993; Cabanac y Bernieri 2000). Por lo tanto, es posible que en nuestro estudio el aumentó en la temperatura corporal y la disminución en la precisión de termorregulación a través del tiempo, así como las diferencias sexuales en estos atributos, sean resultado de una fiebre emocional por efecto del estrés inducido por la manipulación.

El segundo efecto negativo de altos niveles de estrés es que en vertebrados se sabe que inducen catabolismo muscular, es decir el estrés crónico inhibe la síntesis de proteínas y estimula la degradación del músculo esquelético (Marra y Holberton 1998; Hasselgren 1999). Por lo tanto, es posible que la disminución en la velocidad sea resultado de que el estrés debilitó los músculos necesarios para una alta capacidad locomotora en todas las lagartijas.

Y el tercer efecto negativo que se ha demostrado experimentalmente es que el aumentar el nivel de glucocorticoides en lagartijas *Lacerta vivípara* provocó una inversión terminal hacia la coloración (Fitze et al. 2009; Cote et al. 2010). Por lo tanto, otro efecto del estrés podría ser el aumento obtenido en algunas características de la coloración ventral, como el croma azul en machos y el croma rojo en hembras (cambios independientes del aumentó en la temperatura, LMM's: $p \geq 0.47$; y acompañados de una disminución en el croma UV, dada por limitaciones en la cantidad de luz que reflejan los iridóforos cuando tienen un arreglo que permite ampliar el área de absorción de luz de los pigmentos: Ligon et al. 2016). A futuro sería interesante investigar si este aumento en la

coloración está relacionado con el estrés crónico, ya que en caso de ser así, podría significar una inversión terminal en la coloración de ambos sexos.

En conjunto, los resultados de cambios en el tiempo en distintas características de la coloración, el desempeño locomotor y la termorregulación, a pesar de que no cubren los objetivos de este estudio, indican que en época reproductiva existen otros factores, diferentes al sistema inmune (por ejemplo, los glucocorticoides), que pueden estar jugando un papel muy importante en la vida de las lagartijas.

9.3. Peso, croma azul y croma UV en machos

Como parte de nuestros resultados, el peso se relacionó positivamente con el croma azul y negativamente con el croma UV en machos. Estos resultados, sugieren que en época reproductiva, los organismos de mayor peso pueden mantener una saturación azul alta (que como mencionamos anteriormente conlleva a una disminución en la saturación UV); mientras que los organismos de menor peso no son capaces de mantener una saturación azul alta (lo que elimina la limitación de presentar saturaciones UV altas). Y además, revelan que el peso en sí es un buen indicador de la condición de los organismos, especialmente cuando está estrechamente relacionado con la talla (LHC en lagartijas), como sucede en este estudio.

10. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos y lo previamente discutido, surgen nuevas preguntas por resolver: ¿La calidad térmica del ambiente puede influir en las disyuntivas de historia de vida entre la función inmune y la reproducción o supervivencia? ¿Especies de latitudes o altitudes más altas tendrán una vida más larga, más eventos reproductivos y priorizarán asignar recursos al sistema inmune para sobrevivir y reproducirse en eventos reproductivos futuros? ¿Habrá repercusiones a largo plazo en la supervivencia de esta especie por efecto de retos inmunes? ¿Habrá disyuntivas con otros atributos no abarcados en este estudio? Y adicionalmente, ¿Cuál es el papel del estrés en la historia de vida de las lagartijas y que disyuntivas puede inducir?

Sugerimos que en estudios futuros investigando disyuntivas de historias de vida entre la inmunidad y otras funciones ligadas a la adecuación, se incluyan medidas del sistema inmune, como anticuerpos específicos, para confirmar la activación del mismo y brindarle mayor poder explicativo a los resultados, especialmente a aquéllos que no cumplen las predicciones generalmente esperadas para estudios de retos inmunes.

El que después de activar experimentalmente una respuesta inmune en *S. grammicus* no provoqué una respuesta febril, ni se comprometa el desempeño locomotor y/o coloración de machos ni de hembras, sugiere que las lagartijas habitan una región altitudinal con los recursos térmicos suficientes para optimizar una respuesta inmune sin desviar recursos hacia la reproducción vía la coloración ni hacia la supervivencia vía desempeño locomotor. Alternativamente, nuestros resultados sugieren que, durante la época reproductiva la lagartija del mezquite no prioriza la asignación de recursos hacia el

sistema inmune, sino hacia la reproducción inmediata, lo que traería consecuencias a su supervivencia futura. En resumen, este estudio nos muestra que en organismos ectotermos los compromisos entre la inversión en una respuesta inmune y otros rasgos ligados a la adecuación no son una generalidad, como sucede en endotermos; posiblemente debido a que en ectotermos los compromisos estén mediados por otros factores extrínsecos (e.g. ambientales o geográficos).

11. REFERENCIAS

- Anderholm, S.; Olsson, M.; Wapstra, E.; Ryberg, K. (2004): Fit and fat from enlarged badges. *Biology Letters* 271:142–4.
- Anderson, R.D.; Blanford, S.; Jenkins, N.E.; Thomas, M.B. (2013): Discriminating fever behavior in house flies. *PLoS ONE* 8: e62269.
- Gelman A. (2008): “Scaling regression inputs by dividing by two standard deviations”. *Statistics in Medicine* 27: 2865–2873. { HIPERLINK "<http://www.stat.columbia.edu/~gelman/research/published/standardizing7.pdf>" }.
- Argaez Márquez, V.E. (2011): Preferencias femeninas por la coloración ventral de los machos en la lagartija del mezquite *Sceloporus grammicus microlepidotus*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Argaez Márquez, V.E. (2015): Selección sexual en un gradiente de urbanización en la lagartija del mezquite (*Sceloporus grammicus microlepidotus*). Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Arsenault, D.; St-Amour, I.; Cisbani, G.; Rousseau, L.S.; Cicchetti, F. (2014): The different effects of LPS and poly I. C prenatal immune challenges on the behavior, development and inflammatory responses in pregnant mice and their offspring. *Brain, Behavior, and Immunity* 38: 77–90. DOI: 10.1016/j.bbi.2013.12.016.
- Bailey, M.; Christoforidou, Z.; Lewis, M. (2012): Evolution of immune systems. Specificity and autoreactivity. *Autoimmunity Reviews*. DOI: 10.1016/j.autrev.2012.10.007.

- Baird, T.A. (2004): Reproductive coloration in female collared lizards, *Crotophytus collaris*, stimulates courtship by males. *Herpetologica* 60: 337–48.
- Bajer, K.; Molnar, O.; Török, J.; Herczeg, G. (2011): Ultraviolet nuptial colour determines fight success in male European green lizards (*Lacerta viridis*). *Biology Letters* 7: 866–8.
- Bajer, K.; Molnar, O.; Török, J.; Herczeg, G. (2010): Female European green lizards (*Lacerta viridis*) prefer males with high ultraviolet throat reflectance. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64: 2007–14.
- Bastiaans, E.; Morinaga, G.; Castañeda G., José G.; Marshall, J.C.; Sinervo, B. (2013): Male aggression varies with throat color in 2 distinct populations of the mesquite lizard. *Behavioral Ecology* 24 (4): 968–981. DOI: 10.1093/beheco/art010.
- Bates D., Mächler M., Bolker B. y Walker S. (2015): Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67 (1). DOI: 10.18637/jss.v067.i01.
- Crawley M. (2007). The R Book. John Wiley and Sons. DOI: 10.1002/9780470515075.
- Bauwens, D.; Garland Jr., T.; Castilla, A.M.; Van Damme, R. (1995): Evolution of sprint speed in lacertid lizards: morphological, physiological and behavioural covariation. *Evolution* 49: 848-863.
- Belliure, J.; Carrascal, L.M. (1998): Influence of heat transmission mode on heating rates and on the selection of patches for heating in a mediterranean lizard. *Physiological and Biochemical Zoology* 75: 369–376.
- Birk, M.; Heath, J. (1975): An analysis of behavioral thermoregulation in the lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *Journal of Thermal Biology* 1: 15-22.

- Blount, J.D.; Metcalfe, N.B.; Birkhead, T.R.; Surai, P.F. (2003): Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in zebra finches. *Science* 300: 125–7.
- Boltaña, S.; Rey, S.; Roher, N.; Vargas, R.; Huerta, M.; Huntingford, F.A.; Goetz, F.W.; Moore, J.; García-Valtanén, P.; Estepa, A.; MacKenzie, S. (2013): Behavioural fever is a synergic signal amplifying the innate immune response. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280: 20131381.
- Bonino, M.; Moreno, D.; Tulli, M.J.; Simón, C.; Perotti, M.; Cruz, F.B. (2011): Running in Cold Weather: Morphology, Thermal Biology, and Performance in the Southernmost Lizard Clade in the World (*Liolaemus lineomaculatus* Section: Liolaemini: Iguania). *Journal of Experimental Zoology* 315: 495-503. DOI: 10.1002/jez.697.
- Bowker, R. G. (1984): Precision of Thermoregulation of Some African Lizards. *Physiological Zoology* 57 (4): 401–412.
- Brace, A.J.; Sheikali, S.; Martin, L. B. (2015): Highway to the danger zone. Exposure-dependent costs of immunity in a vertebrate ectotherm. *Functional Ecology* 29 (7): 924–930. DOI: 10.1111/1365-2435.12402.
- Burns, G.; Ramos, A.; Muchlinski, A. (1996): Fever response in North American Snakes. *J. Herpetol.* 30: 133-139.
- Cabanac, M.; Bernieri, C. (2000): Behavioral rise in body temperature and tachycardia by handling of a turtle (*Clemmys insculpta*). *Behav. Processes* 49: 61-68.
- Cabanac, M.; Laberge, F. (1998): Fever in goldfish is induced by pyrogens but not by handling. *Physiol. Behav.* 63: 377-379.

- Cabanac, M.; Gosselin, F. (1993): Emotional fever in the lizard *Callopistes maculatus* (Teiidae). *Anim. Behav.* 46: 200-202.
- Calisi, R.M.; Malone, J.H.; Hews, D.K. (2008): Female secondary coloration in the Mexican boulder spiny lizard is associated with nematode load. *Journal of Zoology* 276: 358–67.
- Calsbeek, R.; Irschick D.J. (2007): The quick and the dead: correlational selection on morphology, performance, and habitat use in island lizards. *Evolution* 61: 2493–2503.
- Chan, R.; Stuart-Fox, D.M.; Jessop, T.S. (2009): Why are females ornamented? A test of the courtship stimulation and courtship rejection hypotheses. *Behavioral Ecology* 20: 1334–42.
- Christian, K.A.; Baudinette, R.V.; Pamula, Y. (1997): Energetic costs of activity by lizards in the eld. *Funct Ecol.* 11: 392–397.
- Cote, J.; Meylan, S.; Clobert, J.; Voituron, Y. (2010): Carotenoid-based coloration, oxidative stress and corticosterone in common lizards. *The Journal of Experimental Biology* 213: 2116-2124.
- Cox, R.M.; Zilberman, V.; John-Alder, H.B. (2008): Testosterone stimulates the expression of a social color signal in Yarrow’s Spiny Lizard, *Sceloporus jarrovii*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 309A: 505–14.
- Cox, R.M.; Skelley, S.L.; Leo, A.; John-Alder, H.B. (2005): Testosterone regulates sexually dimorphic coloration in the eastern fence lizard, *Sceloporus undulatus*. *Copeia* 2005: 597–608.

- Cuadrado, M. (2000): Body colors indicate the reproductive status of female common chameleons: Experimental evidence for the intersex communication function. *Ethology* 106:79–91.
- Darwin, C. (1871): *The descent of man, and selection in relation of sex*. J. Murray, Ed. London.
- Deen, C.M.; Hutchinson, V.H. (2001): Effects of lipopolysaccharide and acclimation temperature on induced behavioral fever in juvenile *Iguana iguana*. *Journal of Thermal Biology* 26: 55–63. DOI: 10.1016/S0306-4565(00)00026-7.
- Dhabhar, F.S.; McEwen, B.S. (1997): Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo. A potential role for leukocyte trafficking. *Brain, Behavior, and Immunity* 11 (4): 286–306. DOI: 10.1006/brbi.1997.0508.
- Don, M.; Estany, A.; Ramos, A.; Leoni, R.; Muchlinski, A. (1994): Re-examination of the afebrile response in two lizard species (*Varanus exanthematicus* and *Gerrhosaurus major*). *J. Herpetol.* 28: 385-388.
- El-Hafez, A. A.; El-Sharkawy, M. A.; Hassan, K. A. (2014): Consequential effects of high temperature on biological characteristics influencing the efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood and its progeny. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 24: 57e63.
- Elliot S.L.; Horton, C.M.; Blanford, S.; Thomas, M.B. (2005): Impacts of fever on locust life-history traits: costs or benefits? *Biology Letters* 1: 181–184. DOI 10.1098/rsbl.2004.0279.

- Endler, J.A. (1990): On the measurement and classification of color in studies of animal color patterns. *Biological Journal of the Linnean Society* 41: 315–352. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1990.tb00839.x.
- Evans, S.S.; Repasky, E.A.; Fisher, D.T. (2015): Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nat. Rev. Immunol.* 6: 335-349.
- Faivre, B.; Grégoire, A.; Prévault, M.; Cézilly, F.; Sorci, G. (2003): Immune activation rapidly mirrored in a secondary sexual trait. *Science* 300: 103.
- Fitze, P.; Cote, J.; San-Jose, L.; Meylan, S.; Isaksson, C.; Andersson, S.; Rossi, J.M.; Clobert J. (2009): Carotenoid-Based Colours Reflect the Stress Response in the Common Lizard. *PLoS ONE* 4 (4): e5111. DOI:10.1371/journal.pone.0005111.
- Flatt, T.; Heyland, A. (2011). *Mechanisms of Life History Evolution: The Genetics and Physiology of Life History Traits and Trade-Offs*. Oxford: Oxford University Press.
- Forstmeier W. y Schielzeth H. (2011): Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 65: 47-55. DOI: 10.1007/s00265-010-1038-5.
- French, S. S.; McLemore, R.; Vernon, B.; Johnston, G. I. H.; Moore, M. C. (2007a): Corticosterone modulation of reproductive and immune systems trade-offs in female tree lizards. Long-term corticosterone manipulations via injectable gelling material. *Journal of Experimental Biology* 210 (16): 2859–2865. DOI: 10.1242/jeb.005348.

- French, S.S.; DeNardo, D.F.; Moore, M.C. (2007b): Trade-offs between the reproductive and immune systems. Facultative responses to resources or obligate responses to reproduction? *American Naturalist* 170 (1): 79–89. DOI: 10.1086/518569.
- Guillette, L.J.; Casas-Andreu, G. (1980): Fall Reproductive Activity in the High Altitude Mexican Lizard, *Sceleporus grammicus microlepidotus*. *Journal of Herpetology* 14 (2): 143–147.
- Hager, S.B. (2001): The role of nuptial coloration in female *Holbrookia maculata*: evidence for a dual signalling system. *Journal of Herpetology* 35: 624–32.
- Haisten, D.C.; Paranjpe, D.; Loveridge, S.; Sinervo, B. (2015): The Cellular Basis of Polymorphic Coloration in Common Side-Blotched Lizards, *Uta stansburiana*. *Herpetologica* 71 (2): 125–135. DOI: 10.1655/HERPETOLOGICA-D-13-00091.
- Hallman, G.M.; Ortega, C.E.; Towner, M.C.; Muchlinski, A.E. (1990): Effect of bacterial pyrogen on three lizard species. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 96: 383-386.
- Hamilton, W.D.; Zuk, M. (1982): Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites?. *Science* 218(4570): 384-387.
- Hasday, J.D.; Fairchild, K.D.; Shanholtz, C. (2000): The role of fever in the infected host. *Microbes and Infection* 2: 1891–1904. DOI 10.1016/S1286-4579(00)01337-X.
- Hasselgren, P-O. (1999): Glucocorticoids and muscle catabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2 (3): 201–205.

- Herczeg, G.; Herrero, A.; Saarikivi, J.; Gonda, A.; Jäntti, M.; Merilä, J. (2008): Experimental support for the cost-benefit model of lizard thermoregulation: the effects of predation risk and food supply. *Oecologia* 155: 1–10. DOI 10.1007/s00442-007-0886-9.
- Hews, D.K.; Knapp, R.; Moore, M.C. (1994): Early exposure to androgens affects adult expression of alternative male types in tree lizards. *Hormones and Behavior* 28: 96–115.
- Hill, G.E. (2011): Condition-dependent traits as signals of the functionality of vital cellular processes. *Ecol. Lett.* 14: 625 – 634. DOI:10.1111/j.1461-0248.2011.01622.x.
- Husak, J.F.; Ferguson, H.A.; Lovern, M.B. (2016): Trade-offs among locomotor performance, reproduction and immunity in lizards. *Functional Ecology* 30 (10): 1665–1674. DOI: 10.1111/1365-2435.12653.
- Ibáñez, A.; Polo-Cavia, N.; López, P.; Martín, J. (2014): Honest sexual signaling in turtles. Experimental evidence of a trade-off between immune response and coloration in reared sliders *Trachemys scripta elegans*. *Naturwissenschaften* 101 (10): 803–811. DOI: 10.1007/s00114-014-1219-6.
- Iglesias-Carrasco, M.; Head, M.L.; Cabido, C. (2016): Habitat dependent effects of experimental immune challenge on lizard anti-predator responses. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70 (11): 1931–1939. DOI: 10.1007/s00265-016-2199-7.
- Iraeta, P.; Salvador, A.; Monasterio, C.; Díaz, J.A. (2010): Effects of gravidity on the locomotor performance and escape behaviour of two lizard populations: the importance of habitat structure. *Behaviour* 147:133–150.


- Jiménez-Cruz, E.; Ramírez-Bautista, A.; Marshall, J.C.; Lizana-Avia, M.; Oca, A.; Nieto-montes D.E. (2005): Reproductive Cycle of *Sceloporus grammicus* (Squamata. Phrynosomatidae) from Teotihuacán, México. *The Southwestern Naturalists* 50 (2): 178–187.
- Klein, S. L. (2004): Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology* 26: 247–264.
- Kluger, M.J. (1979): Fever in ectotherms: evolutionary implications. *American Zoologist* 19 : 295–304. DOI 10.1093/icb/19.1.295.
- Kluger, M.J. (1991): Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiological Reviews* 71 : 93–128.
- Kluger, M.J., Kozak, W.; Conn, C.A.; Leon, L.R.; Soszynski, D. (1998): Role of fever in disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 856 : 224–233. DOI 10.1111/j.1749-6632.1998.tb08329.x.
- Kluger, M.J., Ringler, D.H.; Anver, M.R. (1975): Fever and survival. *Science* 188 : 166–168. DOI 10.1126/science.1114347.
- Kopena, R.; López, P.; Martín, J. (2014): What are carotenoids signaling? Immunostimulatory effects of dietary vitamin E, but not of carotenoids, in Iberian green lizards. *Naturwissenschaften* 101 (12): 1107–1114. DOI: 10.1007/s00114-014-1250-7.
- Laburn, H.P.; Mitchell, D.; Kenedi, E.; Louw, G.N. (1981): Pyrogens fail to produce fever in a cordylid lizard. *Am. J. Physiol.* 241: R198-202 .
- Langkilde, T.; Boronow, K. E. (2012): Hot Boys Are Blue. Temperature-Dependent Color Change in Male Eastern Fence Lizards. *Journal of Herpetology* 46 (4): 461–465. DOI: 10.1670/11-292.

- Lancaster, L.T.; Hipsley, C.A.,; Sinervo, B. (2009): Female choice for optimal combinations of multiple male display traits increases offspring survival. *Behavioral Ecology* 20(5): 993–9.
- Launey, Y.; Nessler, N.; Mallédant, Y.; Seguin, P. (2011): Clinical review: Fever in septic ICU patients - friend or foe? *Critical Care* 15 : 222.
- Llanos-Garrido, A., Díaz, J.A., Pérez-Rodríguez, A.; Arriero, E. (2017): Variation in male ornaments in two lizard populations with contrasting parasite loads. *J Zool.* DOI:10.1111/jzo.12478.
- LeBas, N.R. (2001): Microsatellite determination of male reproductive success in a natural population of the territorial ornate dragon lizard, *Ctenophorus ornatus*. *Molecular Ecology* 10: 193–203.
- Le Galliard, J.F.; Clobert, J.; Ferrière, R. (2004): Physical performance and Darwinian fitness in lizards. *Nature*. 432: 502–505.
- Lemos-Espinal, J.; Ballinger, R. (1995): Ecology of growth of the high altitud lizard *Sceloporus grammicus* on the eastern slope of the Iztaccihuatl Volcano, Puebla, México. *Trans. Nebraska Acad. Sci.* 22: 77-85.
- Ligon, R.A.; McCartney, K.L. (2016): Biochemical regulation of pigment motility in vertebrate chromatophores. A review of physiological color change mechanisms. *Current Zoology* 62 (3): 237–252. DOI: 10.1093/cz/zow051.
- Lochmiller, R.L.; Deerenberg, C. (2000): Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity?. *Oikos* 88:87–98.

- López, P.; Gabirot, M.; Martín, J. (2009a): Immune challenge affects sexual coloration of male Iberian wall lizards. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 311 (2): 96–104. DOI: 10.1002/jez.505.
- López, P.; Gabirot, M.; Martín, J. (2009b): Immune activation affects chemical sexual ornaments of male Iberian wall lizards. *Naturwissenschaften* 96 (1): 65–69. DOI: 10.1007/s00114-008-0451-3.
- Marais, M.; Maloney, S.K.; Gray, D.A. (2011): The metabolic cost of fever in Pekin ducks. *Journal of Thermal Biology* 36: 116–120. DOI 10.1016/j.jtherbio.2010.12.004.
- Marra P.; Holberton R. (1998): Corticosterone levels as indicators of habitat quality: effects of habitat segregation in a bird during the non-breeding season. *Oecologia* 116 (1–2): 284–292. DOI:10.1007/s004420050590.
- Martel, A.; Blooi, M.; Adriaensen, C.; Van Rooij, P.; Beukema, W.; Fisher, M.C.; Farrer, R.A.; Schmidt, B.R.; Tobler, U.; Goka, K.; Lips, K.R.; Muletz, C.; Zamudio, K.R.; Bosch, J.; Lotters, S.; Wombwell, E.; Garner, T.W.; Cunningham, A.A.; Spitzen-van der Sluijs, A.; Salvidio, S.; Ducatelle, R.; Nishikawa, K.; Nguyen, T.T.; Kolby, J.E.; Van Bocxlaer, I.; Bossuyt, F.; Pasmans, F. (2014). Wildlife disease. Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. *Science* 346 : 630-631.
- Martin, L.B. (2009): Stress and immunity in wild vertebrates. Timing is everything. *General and Comparative Endocrinology* 163: 70–76. DOI: 10.1016/j.ygcen.2009.03.008.

- Martin, L.B.; Weil, Zachary M.; Nelson, Randy J. (2008): Seasonal changes in vertebrate immune activity. Mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 321–339. DOI: 10.1098/rstb.2007.2142.
- Martin, J.; López, P. (2009): Thermal constraints of refuge use by Schreiber's green lizards, *Lacerta schreiberi*. *Behaviour* 147: 275–284. DOI: 10.1163/000579509X12529330682239.
- Martin, J.; López, P. (2000): Costs of refuge use affect escape decisions of Iberian rock lizards *Lacerta monticola*. *Ethology*. 106: 483–492.
- Martin, J.; Forsman, A. (1999): Social costs and development of nuptial coloration in male *Psammotromus algirus* lizards: an experiment. *Behavioral Ecology* 10(4): 396–400.
- Marx, J.; Hilbig, R.; Rahmann, H. (1984): Endotoxin and prostaglandin E1 fail to induce fever in a teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 77: 483-487.
- Matson, K. D.; Versteegh, M. A.; van der Velde, M.; Tieleman, B. I. (2015): Effects of immune supplementation and immune challenge on bacterial assemblages in the avian cloaca. *Journal of Ornithology* 156 (3): 805–810. DOI: 10.1007/s10336-015-1180-y.
- Megía-Palma, R.; Martínez, J.; Merino, S. (2016): Structural- and carotenoid-based throat colour patches in males of *Lacerta schreiberi* reflect different parasitic diseases. *Behav. Ecol. Sociobiol.* DOI: 10.1007/s00265-016-2205-0.
- Merchant, M.; Fleury, L.; Rutherford, R.; Paulissen, M. (2008): Effects of bacterial lipopolysaccharide on thermoregulation in green anole lizards (*Anolis carolinensis*). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 125: 176–181. DOI: 10.1016/j.vetimm.2008.04.014.

- Merchant M.; Britton, A. (2006): Characterization of serum complement activity of saltwater (*Crocodylus porosus*) and freshwater (*Crocodylus johnstoni*) crocodiles. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 143: 488–493. DOI: 10.1016/j.cbpa.2006.01.009.
- Monaghan, P.; Metcalfe, N.B.; Torres, R.(2009): Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs. Mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology Letters* 12: 75–92. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01258.x.
- Mondal, S.; Rai, U. (2002): Dose and time-related in vitro effects of glucocorticoid on phagocytosis and nitrite release by splenic macrophages of wall lizard *Hemidactylus flaviviridis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 129: 391–398.
- Mondal, S.; Rai, U. (2001): In vitro effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 132: 461–470.
- Morrison, R.L.; Rand, M.S.; Frost-Mason, S.K. (1995): Cellular Basis of Color Differences in Three Morphs of the Lizard *Sceloporus undulatus erythrocheilus*. *Copeia* 1995 (2): 397–408. DOI: 10.2307/1446903.
- Most, P.; Jong, B.; Parmentier, K.; Verhulst, S. (2011): Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments. *Functional Ecology* 25: 74–80.
- Nelson, R.J. (2004): Seasonal immune function and sickness responses. *TRENDS in Immunology* 25 (4). DOI: 10.1016/j.it.2004.02.001.

- Newbold T.A. (2005): DESERT HORNED LIZARD (*PHRYNOSOMA PLATYRHINOS*) LOCOMOTOR PERFORMANCE: THE INFLUENCE OF CHEATGRASS (*BROMUS TECTORUM*). *The Southern Naturalist* 50 : 17.23.
- Norris, K.; Evans, M.R. (2000): Ecological immunology. Life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology* 11 (1): 19–26.
- Olsson, M.; Stuart-Fox, D.; Ballen, C. (2013): Genetics and evolution of colour patterns in reptiles. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 24 (6-7): 529–541. DOI: 10.1016/j.semcdb.2013.04.001.
- Olsson, M.; Wilson, M.; Isaksson, C.; Uller, T.; Mott, B. (2008): Carotenoid intake does not mediate a relationship between reactive oxygen species and bright colouration: experimental test in a lizard. *Journal of Experimental Biology* 211:1257–61. 
- Olsson, M.; Wapstra, E.; Madsen, T.; Silverin B. (2000): Testosterone, ticks and travels: a test of the immunocompetence-handicap hypothesis in free-ranging male sand lizards. *The Royal Society B* 267. DOI: { HIPERLINK "https://DOI.org/10.1098/rspb.2000.1289" }.
- Olsson, M.; Gullberg, A.; Tegelström, H. (1994): Sperm competition in the sand lizards, *Lacerta agilis*. *Animal Behaviour* 48:193–200.
- Ortega, J.; Pellitteri-Rosa, D.; López, P.; Martín, J. (2015): Dorsal pattern polymorphism in female Iberian wall lizards. Differences in morphology, dorsal coloration, immune response, and reproductive investment. *Biological Journal of the Linnean Society* 116 (2): 352–363. DOI: 10.1111/bij.12599.

- Ortega, C.E.; Stranc, D.S.; Casal, M.P.; Hallman, G.M.; Muchlinski, A.E. (1991): A positive fever response in *Agama agama* and *Sceloporus orcutti* (Reptilia: Agamidae and Iguanidae). *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 161: 377-381.
- Ortega-Rubio, A.; Barbault, R.; Halffter, G. (1999): Population dynamics of *Sceloporus grammicus* (Sauria: Phrynosomatidae) at Durango, México. *Southwest. Nat.* 44: 64-72.
- Otti, O.; Gantenbein-Ritter, I.; Jacot, A.; Brinkhof, M.W.G. (2012): IMMUNE RESPONSE INCREASES PREDATION RISK. *Evolution* 66 (3): 732–739. DOI: 10.1111/j.1558-5646.2011.01506.x.
- Paranjpe, D.A.; Medina, D.; Nielsen, E.; Cooper, R.D.; Paranjpe, S.A.; Sinervo, B. (2014): Does Thermal Ecology Influence Dynamics of Side- Blotched Lizards and Their Micro-Parasites? *Integrative and Comparative Biology*. DOI: 10.1093/icb/icu069.
- Pérez i de Lanuza, G.; Font, E. (2014): Now you see me, now you don't. Iridescence increases the efficacy of lizard chromatic signals. *Naturwissenschaften* 101 (10): 831–837. DOI: 10.1007/s00114-014-1224-9.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D y R Core Team (2017). *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-131. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Plasman, M.; Reynoso, V.H.; Nicolás, L.; Torres, R. (2015): Multiple colour traits signal performance and immune response in the Dickersons collared lizard *Crotaphytus dickersonae*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 69 (5): 765–775. DOI: 10.1007/s00265-015-1892-2.

- Quinn, V.S.; Hews, D.K. (2003): Positive Relationship between Abdominal Coloration and Dermal Melanin Density in Phrynosomatid Lizards. *Copeia* 2003 (4): 858–864. DOI: 10.1643/h202-116.1.
- Rakus, K.; Ronsmans, M.; Vanderplasschen A. (2016): Behavioral fever in ectothermic vertebrates. *Developmental and Comparative Immunology*. DOI: 10.1016/j.dci.2016.06.027.
- R Development Core Team. (2017): R: A Language and Environment for Statistical Computing (v3.3.3). Viena, Austria. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>.
- Roth, J.; Blatteis, C.M. (2014): Mechanisms of fever production and lysis: lessons from experimental ^L_{SEPI}LPS fever. *Compr. Physiol.* 4: 1563-1604.
- Ruiz, M.; French, S.; Demas, G.; Martins E. (2009): Food supplementation and testosterone interact to influence reproductive behavior and immune function in *Sceloporus graciosus*. *Hormones and Behavior* 57: 134–139.
- Saad, A.H.; El Deeb, S. (1990): Immunological Changes During Pregnancy in the Viviparous Lizard, *Chalcides ocellatus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 25: 279-286.
- Sacchi, R.; Capelli, E.; Scali, S.; Pelliteri-Rosa, D.; Ghitti, M.; Acerbi, E.; Pingitore, E. (2014): In vitro temperature dependent activation of T-lymphocytes in Common wall lizards (*Podarcis muralis*) in response to PHA stimulation. *Acta Herpetologica* 9 (2): 131–138.
- Salvador, A.; Veiga, J.P.; Martin, J.; López, P.; Abellanda, M.; Puerta, M. (1996): The cost of producing a sexual selection: testosterone increases the susceptibility of male lizards to ectoparasite infestation. *Behavioral Ecology* 7: 145–50.

Schall, J.J. (1990): Virulence of lizard malaria: the evolutionary ecology of an ancient parasite-host association. *Parasitology* 100: S35-52.

Scharf, I.; Feldman, A.; Novosolov, M.; Pincheira-Donoso, D.; Das, I.; Böhm, M.; Uetz, P.; Torres-Carvajal, O.; Bauer, A.; Roll, U. (2015): Late bloomers and baby boomers: ecological drivers of longevity in squamates and the tuatara. *Global Ecol Biogeogr* 24:396–405.

Schmid-Hempel, P. (2011): Evolutionary Parasitology: The Integrated Study of Infections, Immunology, Ecology, and Genetics. Oxford: Oxford University Press.

Shawkey, M.D.; D’Alba, L. (2017): Interactions between colour-producing mechanisms and their effects on the integumentary colour palette. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372 (1724): 20160536. DOI: 10.1098/rstb.2016.0536.

Sheldon, B.C.; Verhulst, S. (1996): Ecological immunology. Costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *TREE* 11 (8): 317–321.

Shine, R. (2005): Life-history evolution in reptiles. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 23-46.

Skinner, H.M.; Durso, A.M.; Neuman-Lee, L.A.; Durham, S.L.; Mueller, S.D.; French, S.S. (2016): Effects of Diet Restriction and Diet Complexity on Life History Strategies in Side-Blotched Lizards (*Uta stansburiana*). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 325 (9): 626–637. DOI: 10.1002/jez.2056.

Smith, G.D.; Neuman-Lee, L.A.; Webb, A.C.; Angilletta, M.J.; DeNardo, D.F.; French, S.S. (2017): Metabolic responses to different immune challenges and varying resource availability in the side-blotched lizard (*Uta stansburiana*). *Journal of Comparative Physiology B* 0 (0): 0. DOI: 10.1007/s00360-017-1095-4.

- Sousa do Amaral, J.; Marvin, G.A.; Hutchison, V.H. (2002): The Influence of Bacterial Lipopolysaccharide on the Thermoregulation of the Box Turtle *Terrapene carolina*. *Physiological and Biochemical Zoology* 75 (3): 273–282.
- Spence, A.R.; Durso, A.M.; Smith, G.D.; Skinner, H.M.; French, S.S. (2017): Physiological Correlates of Multiple Parasitic Infections in Side-Blotched Lizards. *Physiological and Biochemical Zoology* 90 (3): 0. DOI: 10.1086/691059.
- Stearns, S.C. (1992): The Evolution of Life Histories. Oxford: Oxford University Press.
- Steffen, J.E.; McGraw, K.J. (2009): How dewlap color reflects its carotenoid and pterin content in male and female brown anoles (*Norops sagrei*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 154 (3): 334–340. DOI: 10.1016/j.cbpb.2009.07.009.
- Stockmaier, S.; Dechmann, D.K. N.; Page, R.A.; O’Mara, M.T. (2015): No fever and leucocytosis in response to a lipopolysaccharide challenge in an insectivorous bat. *Biology Letters* 11: 4–7. DOI: 10.1098/rsbl.2015.0576.
- Swierk, L.; Ridgway, M.; Langkilde, T. (2012): Female lizards discriminate between potential reproductive partners using multiple male traits when territory cues are absent. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66: 1033–43.
- Tibbetts, E.A.; Mullen, S.P.; Dale, J.(2017): Signal function drives phenotypic and genetic diversity. The effects of signalling individual identity, quality or behavioural strategy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 372: 1–9. DOI: 10.1098/rstb.2016.0347.

- Tobler, M.; Ballen, C.; Healey, M.; Wilson, M.; Olsson, M. (2015): Oxidant trade-offs in immunity. An experimental test in a lizard. *PLoS ONE* 10 (5): 1–17. DOI: 10.1371/journal.pone.0126155.
- Todd, G.; Jodrey, A.; Stahlschmidt, Z. (2016): Immune activation influences the trade-off between thermoregulation and shelter use. *Animal Behaviour* 118: 27–32. DOI: 10.1016/j.anbehav.2016.05.003.
- Torres, R.; Velando, A. (2007): Male Reproductive Senescence. The Price of Immune-Induced Oxidative Damage on Sexual Attractiveness in the Blue-Footed Booby. *Journal of Animal Ecology* 76 (6): 1161–1168. DOI: 10.1111/j.1365-2656.2007.01282.x.
- Uller, T.; Isaksson, C.; Olsson, M. (2006): Immune challenge reduces reproductive output and growth in a lizard. *Functional Ecology* 20: 873–879. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2006.01163.x.
- Velando, A.; Beamonte-Barrientos, R.; Torres, R. (2014): Enhanced male coloration after immune challenge increases reproductive potential. *Journal of Evolutionary Biology* 27 (8): 1582–1589. DOI: 10.1111/jeb.12416.
- Vervust, B.; Grbac, I.; van Damme, R. (2007): Differences in morphology, performance and behaviour between recently diverged populations of *Podarcis sicula* mirror differences in predation pressure. *Oikos* 116 (8): 1343–1352. DOI: 10.1111/j.2007.0030-1299.15989.x.
- Wang, Y.; Zeng, Z.; Ma, L.; Li, S.; Du, W. (2017): Food restriction affects maternal investment but not neonate phenotypes in a viviparous lizard. *ZOOLOGICAL RESEARCH* 38 (2): 81–87. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2017.011.

- Wang, T.; Zaar, M.; Arvedsen, S.; Vedel-Smith, C.; Overgaard, J. (2003): Effects of temperature on the metabolic response to feeding in *Python molurus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 133: 519e527.
- Weiss, S.; Foerster, K.; Hudon, J. (2012): Pteridine, not carotenoid, pigments underlie the female-specific orange ornament of striped plateau lizards (*Sceloporus virgatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 161: 117–123. DOI: 10.1016/j.cbpb.2011.10.004.
- Weiss, S. (2002): Reproductive signals of female lizards: pattern of trait expression and male response. *Ethology* 108:793–813.
- White, T.E.; Dalrymple, R.L.; Noble, D.W.A.; O’Hanlon, J.C.; Zurek, D.B.; Umbers, K.D.L. (2015): Reproducible research in the study of biological coloration. *Animal Behaviour* 106: 51–57. DOI: 10.1016/j.anbehav.2015.05.007.
- Whiting, M.J.; Stuart-Fox, D.M.; O’connor, D.; Firth, D.; Bennett, N.C.; Blomberg, S.P. (2006): Ultraviolet signals ultra-aggression in a lizard. *Animal Behaviour* 72:353–63. ^[1]_{SEP}
- Yagi, K.; Litzgus, J. (2013): Thermoregulation of spotted turtles (*Clemmys guttata*) in a beaver-flooded bog in southern Ontario, Canada. *Journal of Thermal Biology* 38: 205e213.
- Zahavi, A. (1975): Mate selection: a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* 53(1): 205-214.
- Zamora-Camacho, F.; Reguera, S.; Moreno-Rueda, G. (2016): Elevational variation in body-temperature response to immune challenge in a lizard. *PeerJ*: 1–17. DOI: 10.7717/peerj.1972.

- Zamora-Camacho, F.; Reguera, S.; Rubiño-Hispán, M.; Moreno-Rueda, G. (2015): Eliciting an immune response reduces sprint speed in a lizard. *Behavioral Ecology* 26 (1): 115–120. DOI: 10.1093/beheco/aru170.
- Zera, A.; Harshman, L. (2001): The physiology of life history trade-offs in animals. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 32, 95–126.
- Zimmerman, L. M.; Vogel, L. A.; Bowden, R. M. (2010): Understanding the vertebrate immune system. Insights from the reptilian perspective. *The Journal of Experimental Biology* 213: 661–671. DOI: 10.1242/jeb.038315.
- Zucker, N.; Boecklen, W. (1990): Variation in female throat coloration in the tree lizard (*Urosaurus ornatus*): relation to reproductive cycle and fecundity. *Herpetologica* 46:387–94.
- Zuk, M.; Stoehr, A.M. (2002): Immune Defense and Host Life History. *The American Naturalist* 160, S9-S22.
- Zúñiga-Vega, J.; Méndez de la Cruz, F.; Cuellar O. (2008): Body growth in one montane population of *Sceloporus grammicus* (Sauria, Phrynosomatidae) in Central México. *Amphibia-Reptilia* 29: 127-134.
- Zurovsky, Y.; Mitchell, D.; Laburn, H. (1987): Pyrogens fail to produce fever in the leopard tortoise *Geochelone pardalis*. *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* 87: 467-469.

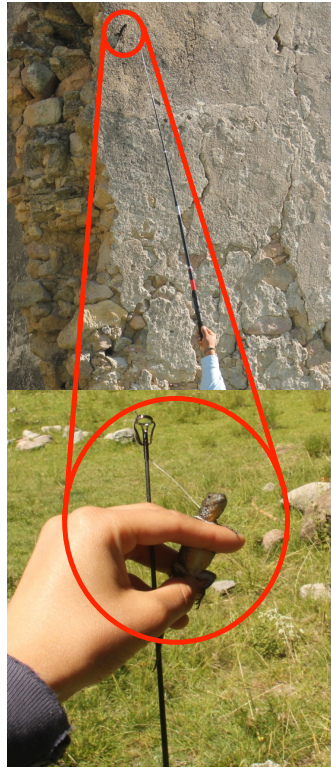
ANEXO 1



Figura 7. Coloración de los parches ventrales de *S. grammicus*: a. hembra con parches ventrales color anaranjado; b. macho con parches azules.

ANEXO 2

a.



b.

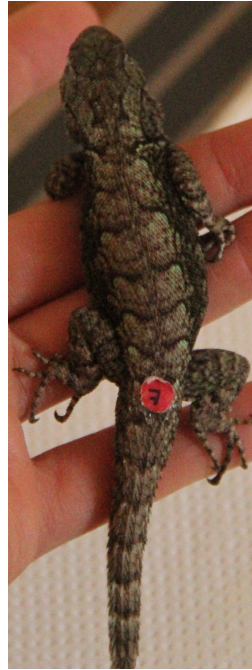


Figura 8. **Captura y marcaje:** a. captura con caña de pescar y lazo; b. identificación con etiqueta numerada sobre el dorso en la parte anterior a la cola de la lagartija.

ANEXO 3

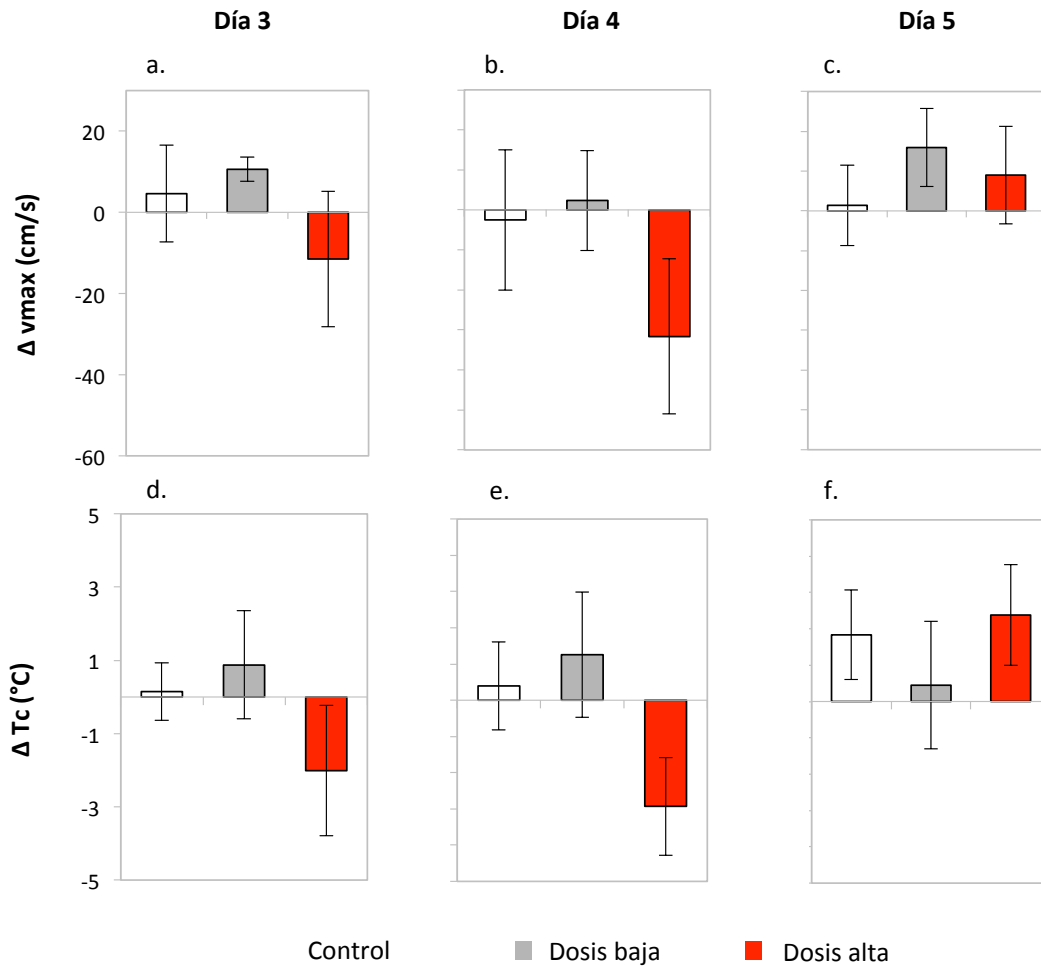


Figura 9. Diferencia (Δ) de temperatura corporal (T_c) y de velocidad máxima (V_{max}): a. y d. en el día 3 post-retro inmune ($\Delta =$ día 3 post-retro – día pre-retro); b. y e. en el día 4 post-retro ($\Delta =$ día 4 post-retro – día pre-retro); c. y f. en el día 5 post-retro ($\Delta =$ día 5 post-retro – día pre-retro).

Realizamos una prueba piloto previa a este trabajo para (1) asegurarnos de que la dosis fuera la correcta para activar la respuesta inmune de las lagartijas de nuestra población y para (2) detectar en que días se expresa el pico de respuesta inmune, es decir, en que días observamos fiebre y/o una disminución en el desempeño locomotor o coloración. Para esto capturamos 15 individuos *S. grammicus* y les proporcionamos un día de aclimatación en laboratorio. Al día siguiente realizamos medidas pre-retro de: velocidad máxima (V_m) de 8:00 a 9:00 am, coloración de 9:00 a 10:00 am y

temperatura promedio corporal (T_c) de 10:00 am a 18:00 pm. El mismo día, retamos su sistema inmune con 1 mg de LPS (LPS de *Escherichia coli*) diluido en 1mL de solución salina fosfatada (PBS) a las 19:00 pm. Utilizamos distintas dosis como tratamiento con base a Sousa do Amaral et al. (2005). Para formar el grupo experimental 1, 5 lagartijas fueron inoculadas con una dosis baja de LPS (0.0025 mg de LPS/g de masa corporal). Otras 5 lagartijas fueron inoculadas con una dosis alta (0.005 mg de LPS / g de masa corporal) para formar el grupo experimental 2. Y las últimas 5 con el mismo volumen de PBS pero sin LPS, para formar el grupo control. Durante los siguientes 5 días posteriores al reto inmune con distintas dosis, realizamos medidas repetidas de desempeño locomotor, coloración y termorregulación, en el mismo horario que las medidas pre-reto. De los datos obtenidos no fue posible realizar análisis estadísticos debido a que el tamaño de muestra fue insuficiente por cuestiones éticas. Sin embargo, en gráficas exploratorias, observamos que dentro de los dos primeros días post-reto no hay diferencias entre los tres tratamientos comparados al día pre-reto. Mientras que durante los días 3 y 4 post-reto hay una disminución en la V_m de individuos con dosis alta a comparación del día pre-reto (Fig. 9a-c). Además, del día 3 al 5 post-reto, hay cambios drásticos en la T_p de los individuos con de dosis alta (Fig. 9d-f). A partir de éstos patrones se determinó (1) utilizar la dosis de mayor concentración de LPS para el trabajo, así como (2) medir el desempeño locomotor y termorregulación de los días 3 a 5 post-reto. Por problemas con el software del espectrómetro no se pudieron descargar los datos de coloración, por lo tanto se midió la coloración durante los 5 días post-reto.

ANEXO 4

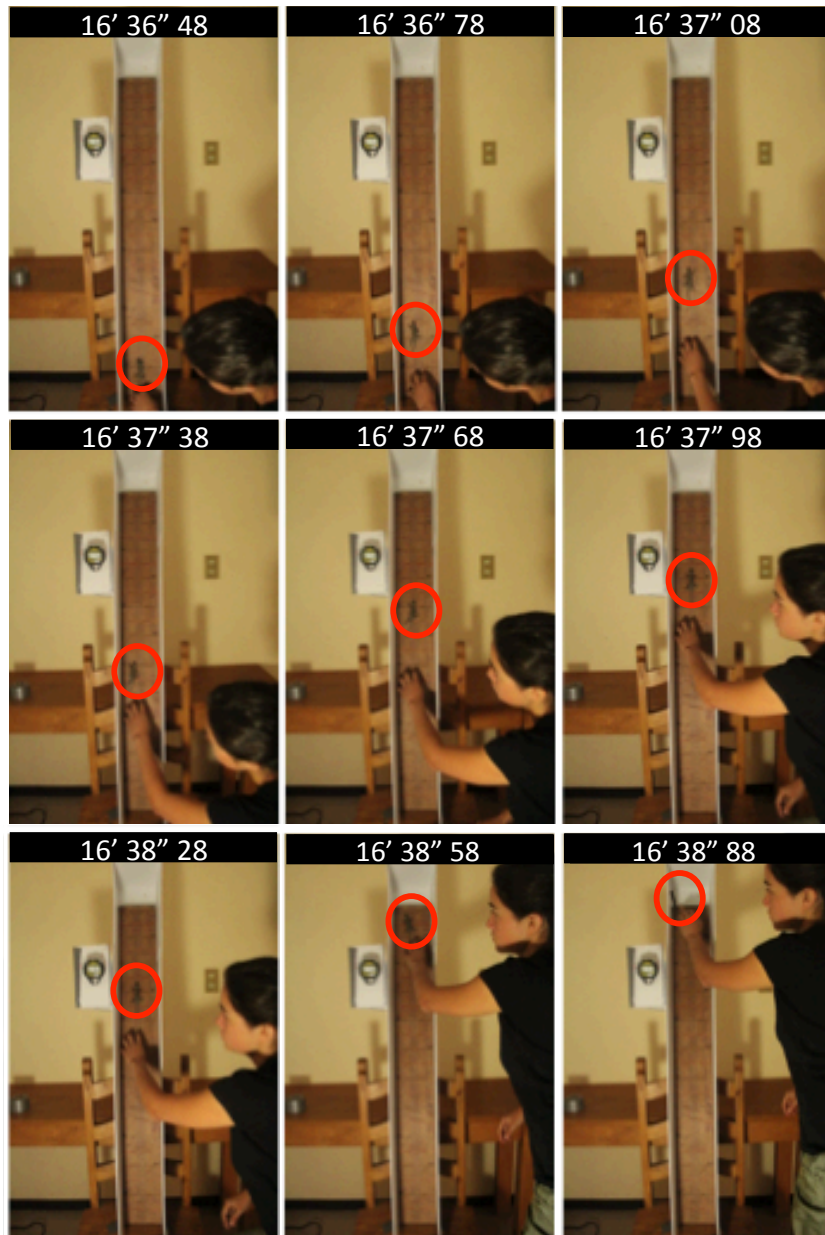


Figura 10. Secuencia fotográfica de una carrera de velocidad. Orden de la secuencia: de arriba a abajo y de izquierda a derecha. En la parte de arriba de cada fotografía se observa el tiempo que marca el cronómetro, y se confirma que el tiempo entre foto y foto es de 0.3 s. Los círculos rojos señalan la posición de la lagartija sobre la pista: en la primer fotografía está al inicio de la pista y en el resto de las fotografías avanza sobre la pista de carreras al ser perseguida por una mano (siempre de la misma persona). La pista de carreras esta dividida en cms. Con el material fotográfico obtuvimos la distancia recorrida por cada lagartija entre foto y foto (d), así como la distancia y tiempo total de cada carrera (d_t y t_t , respectivamente), datos con los que calculamos la velocidad máxima y sostenida ($v_m = d / 0.3$ s y $v_s = d_t / t_t$, respectivamente).

ANEXO 5

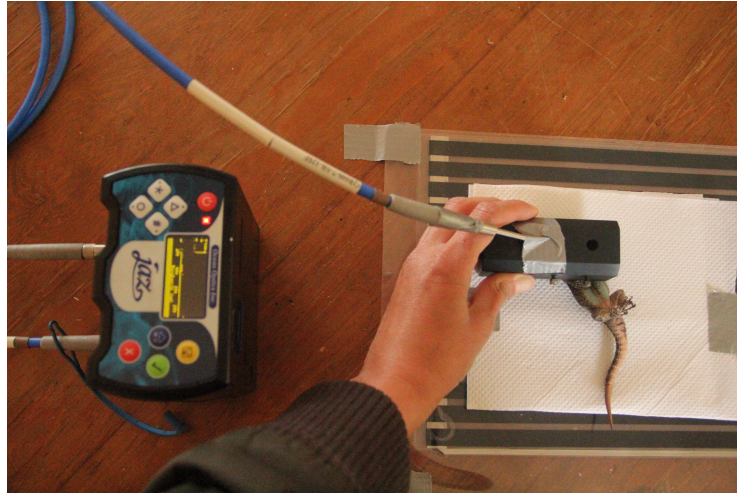
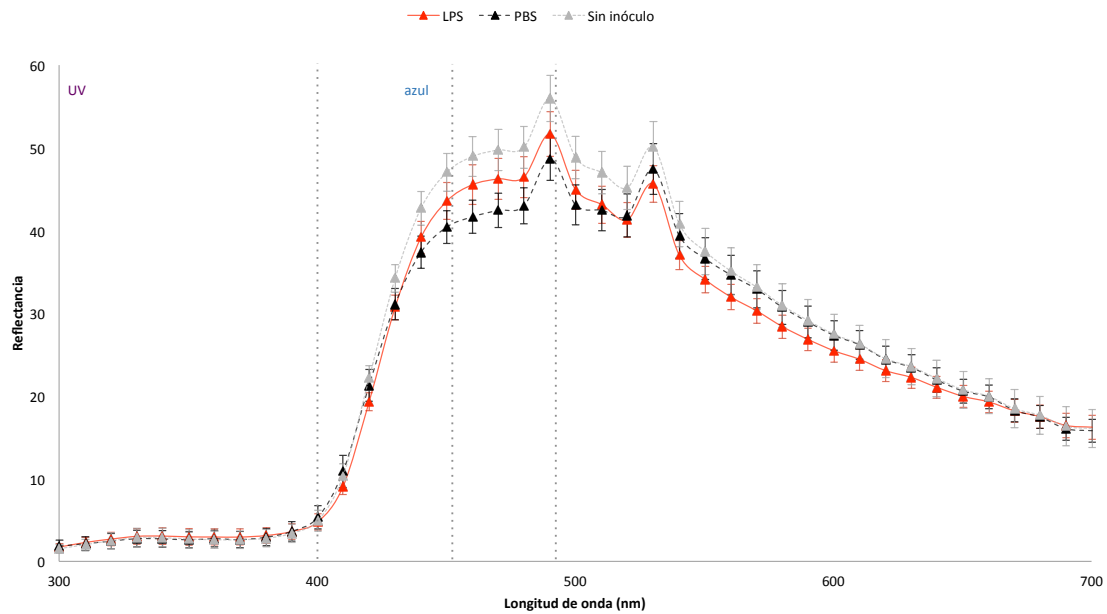


Figura 11. Medición de la coloración parches ventrales. En la figura se observa el espectrómetro (a la izquierda), el cual está conectado a una sonda de luz continua. La sonda está recubierta de cinta gris para aislarla de la luz externa. La sonda se colocó en un ángulo de 45° y a 5 mm de la superficie ventral de cada lagartija (con ayuda de un accesorio soporte) para obtener una lectura de color.

ANEXO 6

a.



b.

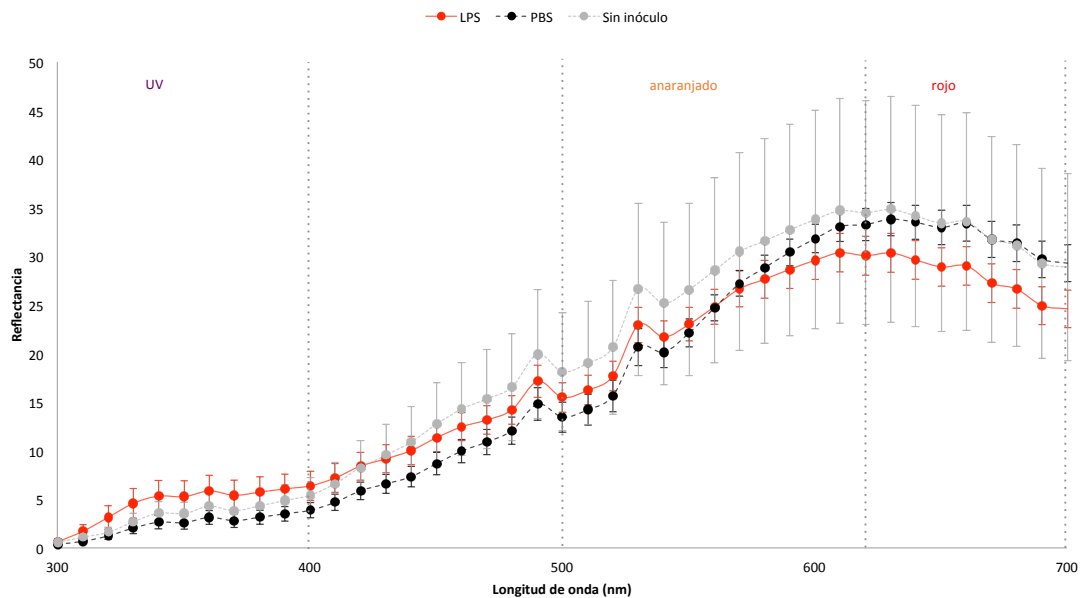


Figura 12. Reflectancia (promedio \pm EE) pre-retro mostrada a intervalos de 10 nm: a. parche ventral azul de machos; b. parche ventral anaranjado de hembras. Las líneas punteadas verticales dividen al espectro de machos en la regiones UV (300-400 nm) y azul (450-490 nm); y al de hembras en las regiones UV, anaranjada (500-620 nm) y roja (620-700 nm). Entre los 481-495 y los 524-545 nm se observan los valores anómalos eliminados de los análisis estadísticos.

ANEXO 7



Figura 13. Medición de la temperatura corporal (T_c). En esta figura se puede ver como insertamos un catéter metálico conectado a un termómetro en la cloaca del individuo para obtener una lectura de su temperatura corporal (en este caso de 27.2 °C).